

**Radioimmunologische Androgenbestimmungen
im Blutplasma vom Rind und Rehwild**

Tomás Giménez

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551911_0037

AUS DEM INSTITUT FÜR PHYSIOLOGIE
DER SÜDD. VERSUCHS- UND FORSCHUNGSANSTALT
FÜR MILCHWIRTSCHAFT WEIHENSTEPHAN
DER TECHNISCHEN UNIVERSITÄT MÜNCHEN

DIREKTOR: PROFESSOR DR. HEINRICH KARG

RADIOIMMUNOLOGISCHE ANDROGENBESTIMMUNGEN
IM BLUTPLASMA VOM RIND UND REHWILD

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER
VETERINÄR-MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE
DES FACHBEREICHS TIERMEDIZIN
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

VON

TOMÁS GIMÉNEZ
AUS MEXICO

MÜNCHEN 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Referent: Prof. Dr. H. Karg

Korreferent: Prof. Dr. M. Rüsse

Tag der Promotion: 21. Februar 1975



A mis padres

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Vorbemerkung	1
1. Literaturteil	2
1.1. Überblick über Chemie, Biosynthese und Stoffwechsel von Androstendion und Testosteron	2
1.1.1. Chemische Struktur	2
1.1.2. Biosynthese	2
1.1.3. Stoffwechsel	4
1.2. Hormonale Regulation der Androgenproduktion	9
1.3. Vorkommen und physiologische Wirkungen von Androgenen	12
1.3.1. Fötale und präpuberale Phase	12
1.3.2. Pubertät und Sexualreife	15
1.3.2.1. Desensibilisierungstheorie	16
1.3.2.2. Allgemeine Einflüsse auf die Sexualfunktion	18
1.3.2.3. Wirkungen im genitalen und extragenitalen Bereich	21
1.4. Bisherige Untersuchungen zum Vorkommen von Androstendion und Testosteron beim Rind und Rehwild	24
1.4.1. Beim Rind	24
1.4.2. Beim Rehwild	26

	Seite
2. Methodischer Teil	30
2.1. Auswahl der Methodik für die Bestimmung von Testosteron und Androstendion im Plasma	30
2.2. Angewandte radioimmunologische Bestimmungsverfahren	31
2.2.1. Prinzip der radioimmunologischen Steroidhormonbestimmung	31
2.2.2. Materialien und Reagentien	35
2.2.3. Eingesetzte Antisera zur Bestimmung von Testosteron und Androstendion	38
2.2.3.1. Eingesetzte Antigene und Gewinnung der Antisera	38
2.2.3.2. Bestimmung der Bindungskapazität und Überprüfung auf Kreuzreaktionen	38
2.2.3.2.1. Antiserum gegen Testosteron	38
2.2.3.2.2. Antiserum gegen Androstendion	43
2.2.4. Vorbereitung der Proben für die radioimmunologische Bestimmung	43
2.2.4.1. Bei alleiniger Bestimmung von Testosteron	43
2.2.4.2. Bei gemeinsamer Bestimmung von Androstendion und Testosteron	45
2.2.5. Durchführung des Radioimmunotests	50
2.2.6. Überprüfung der Zuverlässigkeitskriterien	54

	Seite
2.2.6.1. Spezifität	54
2.2.6.2. Empfindlichkeit	59
2.2.6.3. Genauigkeit	59
2.2.6.4. Reproduzierbarkeit	60
2.3. Tiermaterial und Probennahmen	63
2.3.1. Versuche beim Rind	63
2.3.2. Versuche beim Rehbock	64
2.4. Statistische Verfahren	65

	Seite
3.	Ergebnisse 66
3.1.	Untersuchungen beim Rind 66
3.1.1.	Verlauf der Testosteronkonzentrationen im Plasma von 4 Bullen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche 66
3.1.2.	Verlauf der Androstendionkonzentrationen im Plasma von 4 Bullen von der Geburt bis zum 12. Lebensmonat 72
3.1.3.	Episodische Schwankungen der Testosteron- konzentrationen im peripheren Blutplasma 74
3.1.3.1.	Bei 4 und 8 Wochen alten Kälbern 75
3.1.3.2.	Bei 20 und 40 Wochen alten männlichen Rindern 75
3.1.3.3.	Bei einem 14 Monate alten Bullen 78
3.1.3.4.	Bei einem 34 Monate alten Bullen 80
3.2.	Untersuchungen beim Rehbock 80
3.2.1.	Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma im Verlauf des Jahres bei Jährlingen 82
3.2.2.	Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma bei einem Rehbock im Verlauf von 13 Stunden 87

	Seite
4.	Diskussion 89
4.1.	Diskussion der Methode 89
4.2.	Diskussion der Ergebnisse 91
4.2.1.	Beim Rind 91
4.2.2.	Beim Rehbock 95
5.	Zusammenfassung - Summary 99
6.	Literaturverzeichnis 103
7.	Tabellenanhang 127
	Lebenslauf 161

V o r b e m e r k u n g

Um die hormonale Regulation der männlichen Geschlechtshormone zu erfassen, sind die Androgene besonders aussagefähig. Mir wurde die Aufgabe gestellt, ein Meßverfahren zur Bestimmung von Testosteron und Androstendion im Blutplasma auszuarbeiten.

Damit sollten Testosteron und Androstendion von der Geburt bis zur Sexualreife sowie Testosteron im Verlauf des Tages beim männlichen Rind gemessen werden. Um zu einer relevanten Interpretation zu gelangen, erwies es sich im Verlauf der Arbeit als erforderlich, die Tagesschwankungen bzw. episodischen Veränderungen der Hormonspiegel im Blut zu berücksichtigen.

Die vorliegenden Androgenbestimmungen sind Teil einer Team-Arbeit, wobei im identischen Probenmaterial die gonadotropen Hormone von anderen Mitarbeitern des Instituts gemessen wurden.

Die ausgearbeitete Methode zur Bestimmung von Testosteron wurde weiterhin bei Blutproben von Rehböcken angewandt, wobei vor allem die Frage der Saisonabhängigkeit berücksichtigt wurde.

1. L i t e r a t u r t e i l

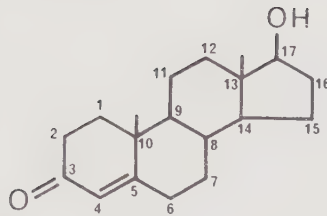
1.1. Überblick über Chemie, Biosynthese und Stoffwechsel von Androstendion und Testosteron

1.1.1. Chemische Struktur

Testosteron und Androstendion sind Steroide. Entsprechend der Anzahl der C-Atome im Molekül gehören sie zur Gruppe der C-19 Steroide, die für Androgene typisch sind. In Abbildung 1 sind die Formeln von Testosteron und Androstendion angegeben, wobei bei Testosteron die entsprechende Numerierung der C-Atome angegeben ist. Wie aus der Abbildung zu erkennen ist, unterscheiden sich beide Verbindungen lediglich in den C-17 Substituenten; Testosteron besitzt eine Hydroxyl-Gruppe und Androstendion eine Keto-Gruppe.

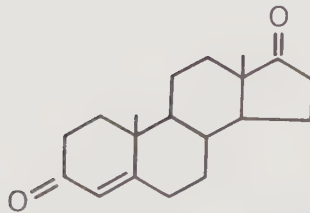
1.1.2. Biosynthese

Aus Abbildung 2 ist zu erkennen, daß bei der Biosynthese von Testosteron Androstendion die unmittelbare Vorstufe ist. Dieses wird, ausgehend von Cholesterin über das Pregnenolon, entweder durch die Zwischenstufen Progesteron und 17 α -Hydroxyprogesteron (Δ^4 -Syntheseweg) oder durch die Zwischenstufen 17 α -Hydroxypregnenolon und Dehydroepiandrosteron (Δ^5 -Syntheseweg) synthetisiert. Speziell beim Δ^5 -Syntheseweg muß als untergeordnete Syntheseroute die Bildung von Testosteron aus Dehydroepiandrosteron über Androstendiol unter Umgehung der Zwischenstufe Androstendion angesehen werden (Butt 1967).



Testosteron

Androst-4-en-3-on-17-ol



Androstendion

Androst-4-en-3,17-dion

Die Androgene werden hauptsächlich in den Leydigzellen der Hoden gebildet. Testosteron konnte erstmals von David et al. 1935 in den Testes von Bullen nachgewiesen werden. Inzwischen wurde erkannt, daß die Hoden nicht nur während der Pubertät und danach (Leidl et al. 1970, Elsaesser et al. 1972, Rawlings et al. 1972, Bell 1972) sondern auch bereits während der fötalen (Lipsett & Tullner 1965, Struck & Karg 1967, Struck et al. 1968, Serra et al. 1970, Kim et al. 1972, Mathur et al. 1972, Warren et al. 1972, Mongkonpunya et al. 1973, Wilson & Siiteri 1973, Siiteri & Wilson 1974, Taylor et al. 1974) und präpuberalen Periode (Lindner 1959, Struck & Karg 1967, Struck et al. 1968, Elsaesser et al. 1972, Rawlings et al. 1972) die wichtigste Produktionsstätte der Androgene sind. Weitere zur Androgensynthese befähigte Organe sind die Nebennierenrinde und das Ovar (Stroma, Follikel, Corpus Luteum) (Butt 1967, Briggs & Brotherton 1970, Baird et al. 1973).

1.1.3. Stoffwechsel

Die Androgene werden nach der Biosynthese von der Zelle direkt ins Blut abgegeben und durch das Kreislaufsystem zu den Erfolgsorganen transportiert. Im Blut kommen sie in 2 Erscheinungsformen vor, als proteingebundene Steroide und als freie Steroide - die als die biologisch aktiven Steroide gelten (Vermeulen & Verdonck 1972) -, wobei tierartliche Unterschiede sowie Unterschiede zwischen den einzelnen Androgenen gegeben sind (Corvol & Bardin 1973). Einerseits werden die Androgene von Albuminen gebunden, die eine sehr hohe Kapazität für die Bindung von Steroiden und eine sehr niedrige Assoziationskonstante besitzen. Diese Bindung an Albumine wird daher als unspezifisch charakterisiert.

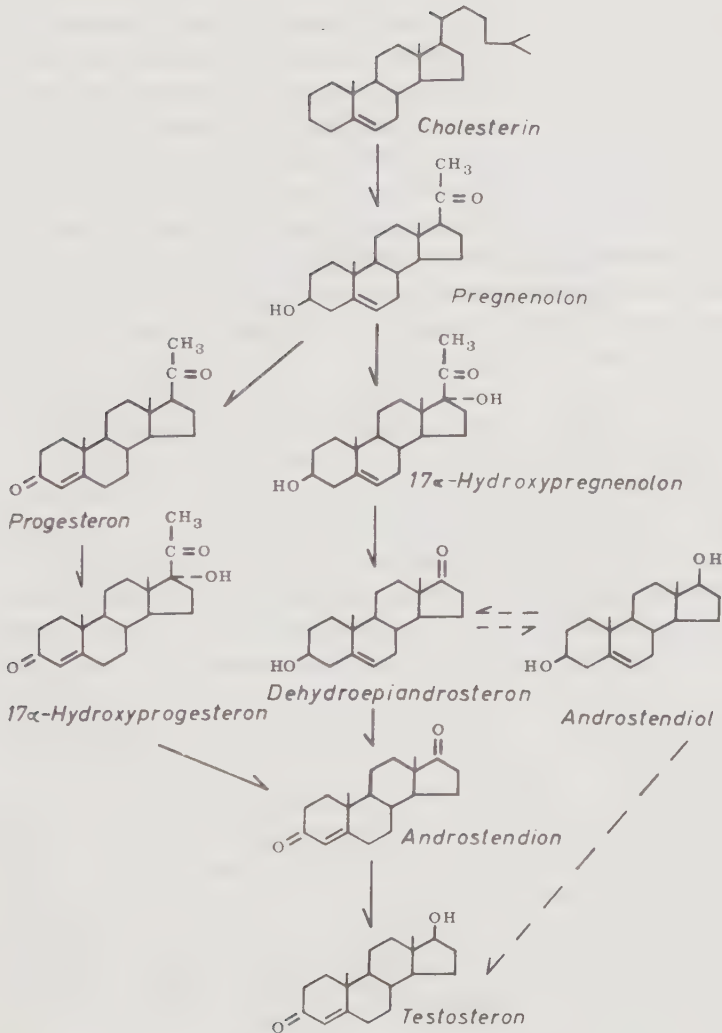


Abb. 2 Biosynthese von Androstendion und Testosteron
(n. Butt 1967 und Odell & Moyer 1971)

Neben dem Albumin gibt es spezifischere Bindungsproteine, die zur Gruppe der Globuline gehören und durch höhere Assoziationskonstanten bei geringerer Bindungskapazität gekennzeichnet sind. Speziell für Testosteron wurde das sog. Sex Steroid bindende Protein = SBP charakterisiert (Mercier 1966, Lea & Støa 1972), das aber auch andere 17-Hydroxy-Steroide bindet, z.B. Östradiol-17 β . Ein zweites spezifischeres Bindungs-Globulin ist das Progesteron- und Testosteron-bindende Globulin, das im Serum von Meer-schweinchen identifiziert wurde (Lea 1973).

Aufgrund von Versuchen mit Corticosteroid bindendem Globulin wird angenommen, daß die Bindungs-Proteine neben einer Vehikel- auch eine Puffer-Funktion erfüllen. So zeigt sich, daß nach Bindung an solche Plasmaproteine die Steroide biologisch nicht aktiv sind, gleichzeitig aber auch von enzymatischen Abbauvorgängen geschützt sind; ebenso wird dadurch die Ausscheidung sowie die Adsorption an Oberflächenstrukturen verringert. Nachdem zunächst Testosteron als das biologisch wichtigste und unmittelbar seine Wirkung entfaltende Androgen galt, wurde inzwischen erkannt, daß in den Zellen der Erfolgsorgane eine weitere Umwandlung zum 5 α -Dihydrotestosteron (5 α -androstan-17 β -ol-3-on = 5 α -DHT) auf enzymatischem Wege (4-3-Ketosteroid-5 α -Oxireductase) stattfindet (s. auch Kap. 1.2.; Wilson & Walker 1969, Halmeyer & Eiknes 1972, Massa et al. 1972, Liao et al. 1972, Hansson et al. 1972, Liao et al. 1973 Sulcova et al. 1973). Jeffcoate & Short (1970) untersuchten die Konzentrationen von 5 α -DHT in den Hoden von einem Bullen und einem Hengst. Es ergab sich dabei, daß, obwohl große Mengen von Testosteron (197.0 bzw. 388.0 ug/100 g Hoden) und Androstendion (33.0 bzw. 24.0 ug/100 g Hoden) gemessen wurden, kein 5 α -DHT gefunden wurde.

Versuche beim Menschen haben gezeigt, daß die 5 α -DHT-Konzentrationen im Blutplasma von Knaben durchschnittlich zwischen 0.03 und 0.37 ng/ml (Gupta et al. 1972) und beim

Mann zwischen 0.54 und 0.64 ng/ml (Ito & Horton 1970) schwanken. Beim Schwein (Göttinger-Minischwein) wurden 5 -DHT-Konzentrationen von 0.27 ng/ml Plasma bis zur 5. Lebenswoche 0.6 - 0.8 ng/ml Plasma bei erwachsenen Tieren gemessen (Elsaesser et al. 1973).

Die wichtigsten Endstufen des Androgenstoffwechsels sind Androsteron und Äthiocholanolon. Der Abbau von Testosteron und Androstendion (dargestellt in Abbildung 3) erfolgt durch enzymatische Umwandlungen in biologisch weniger aktive Zwischenstufen; die Ausscheidung aus dem Körper geschieht hauptsächlich mit dem Urin (zu mehr als 50 %), in dem sie als Glucuronide und Sulfatkonjugate vorliegen (van der Molen 1964). Nur zu einem geringen Teil wird Testosteron ebenfalls in konjugierter Form im Urin ausgeschieden.

Auch für den Androgenstoffwechsel konnte ein entero-hepatischer Kreislauf nachgewiesen werden. So beobachteten Martin et al. (1965) beim Hund und Rind, daß nach einer intravenösen Injektion von radioaktivem Testosteron ein Teil der Radioaktivität in der Gallenflüssigkeit erschien, wovon dann mindestens 20 % im Darm rückresorbiert wurden.

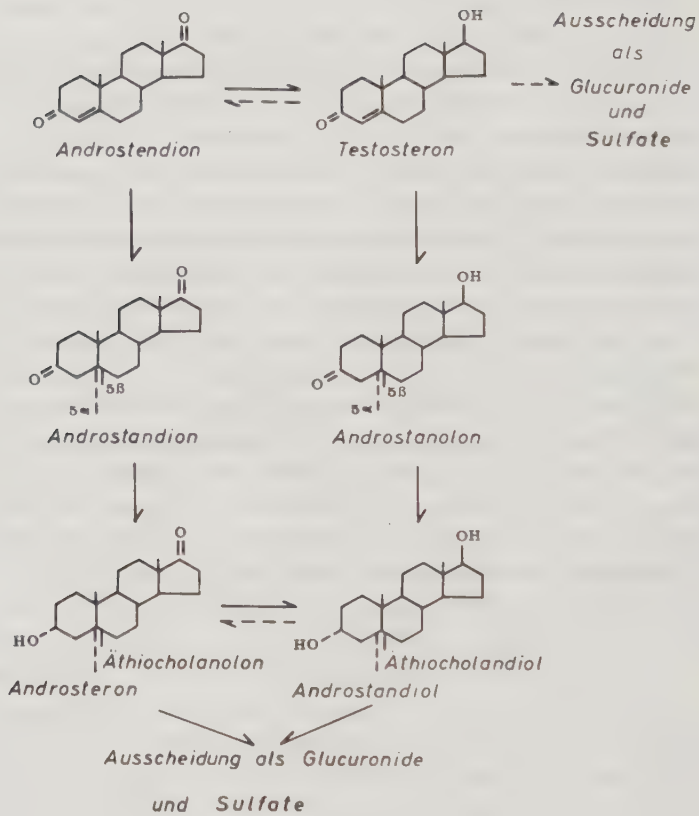


Abb. 3 Abbau von Testosteron und Androstendion
(n. Eberlein et al. 1967)

1.2. Hormonale Regulation der Androgenproduktion

Die hormonale Regulation der Androgenproduktion besteht aus mehreren Folgereaktionen, an denen Elemente des Nerven- und des Hormonsystems beteiligt sind. Die Regelelemente der Androgenproduktion sind in Abbildung 4 zusammenfassend dargestellt. Im Hypothalamus, einem Bereich des Zentralnervensystems, befinden sich die Regelzentren, in denen Informationen empfangen, entschlüsselt und in Aktionen umgewandelt werden (Karg 1970). Dieser Bereich wird nicht nur von Hormonen beeinflusst, sondern auch von anderen Bereichen des Zentralnervensystems und von äußeren Faktoren, wie z.B. der Tageslichtdauer (Davidson et al. 1969). In diesem Gehirnbereich werden die sog. Releaser-Hormone (RH) freigesetzt. Diese Releaser-Hormone werden in die Portalgefäße (Popa & Fielding 1930) ausgeschüttet und wirken dann auf den Hypophysenvorderlappen ein, wodurch die Freisetzung der gonadotropen Hormone LH (Luteinisierungshormon, beim männlichen Tier auch als Interstitial Cell Stimulating Hormone = ICSH bezeichnet) und FSH (Follikelstimulierendes Hormon) ins Blut bewirkt wird (Positiver Feedback-Mechanismus). Über die Abhängigkeit der Hypophysenfunktion vom Hypothalamus wurde bereits im Jahre 1932 von Hohlweg und Junkmann berichtet.

Inzwischen konnte nachgewiesen werden, daß die Freisetzung von LH und FSH nach Stimulierung der Hypophyse durch zwei verschiedene Hormone, das LH-RH bzw. FSH-RH verursacht wird (Bowers et al. 1973). Die Isolierung von LH-RH gelang Schally et al (1971) und die Struktur wurde von Matsuo et al. (1971) aufgeklärt. Hinsichtlich des FSH-RH wurde sein Vorhandensein im Hypothalamus von Currie et al. (1973) festgestellt, und die in vitro Biosynthese wurde von Johansson et al. (1973) beschrieben.

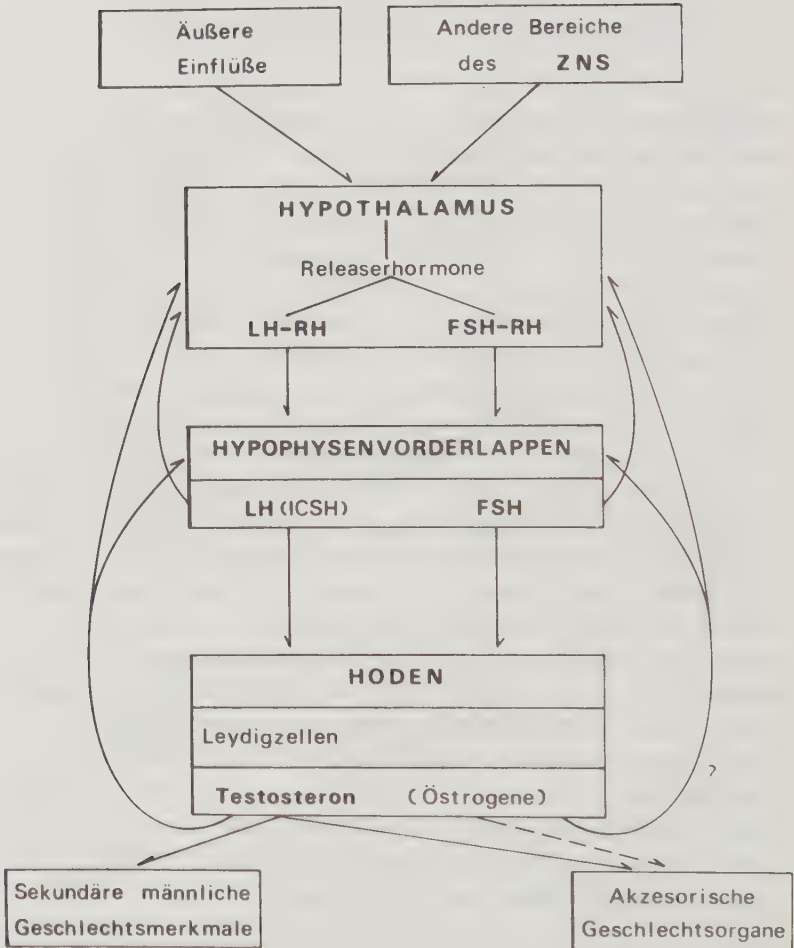


Abb. 4 Regelkreis der Sexualhormone im männlichen Organismus (modifiziert nach Odell & Moyer 1971)

Sobald die Gonadotropine (LH und FSH) die Hoden erreichen, wird vermehrt Testosteron gebildet und ins Blut freigesetzt (Judd 1974). Um eine Wirkung an den Erfolgsorganen ausüben zu können, muß der Testosteronmetabolit 5 α -DHT (s. Kapitel 1.1.3.) zunächst an ein hochspezifisches Zell-Rezeptor-Protein, das sog. β -Protein intrazytoplasmatisch gebunden werden. Diese Steroid-Proteinbindung (5 α -DHT- β -Protein) induziert im Zellkern die Androgenwirkung (Liao et al. 1972, Aakvaag et al. 1972, Bullock & Badin 1972, Hansson & Djøselland 1972, Liao et al. 1973, Harrison & Toft 1973, Mainwaring & Milroy 1973, Mainwaring & Mangan 1973).

Eine eventuelle Rolle der endogenen Östrogene im endokrinen Regelkreis beim männlichen Organismus kann nicht ausgeschlossen werden. So wurde festgestellt, daß die Hoden beim Menschen (Longcope et al. 1972), Hengst und Eber bemerkenswerte Östrogenmengen (Östron und Östradiol-17 β) synthetisieren (Velle 1963). In diesem Zusammenhang verdient der Befund Beachtung, daß nach der Kastration beim Eber und alleinige Behandlung mit Testosteron die Sekretion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen nicht wieder normalisiert wird. Eine solche tritt erst ein, wenn die Behandlung mit Testosteron und Östrogenen gemeinsam durchgeführt wird (Joshi & Raeside 1972). Hat die Testosteronkonzentration im Blut eine bestimmte Grenze überschritten, wirkt sich dies blockierend auf die Freisetzung von Releaserhormonen, d.h. von LH und FSH aus (von zur Mühlen 1973). Inwieweit diese Wirkung durch ein Tubulushormon, von dem kürzlich erste konkrete Mitteilungen gemacht wurden (Franchimont & Chari 1974), hervorgerufen wird, indem es vor allem hemmend auf die FSH-Sekretion wirkt, wird die Forschung in absehbarer Zeit aufzeigen. Diese Blockierung der Gonadotropin-Ausschüttung wird als "Negativer Feedback-Mechanismus" bezeichnet. Ein ähnlicher Regelkreis, der als "Short-Loop-Feedback" gekennzeichnet

wird, findet zwischen Hypothalamus und Hypophyse, d.h. zwischen Releaserhormonen und Gonadotropinen statt. Der basale Teil des Hypothalamus, die Eminencia mediana, wird hauptsächlich als der Wirkungsort dieses "Short-Loop-Feedback"-Mechanismus angesehen.

1.3. Vorkommen und physiologische Wirkungen von Androgenen

1.3.1. Fötale und präpuberale Phase

Die Differenzierung eines Organismus in Richtung "männlich" ist von der Anwesenheit eines männlichen genetischen Geschlechts (XY-Chromosomenpaar) abhängig. Durch diese Chromosomen-Zusammenstellung wird die Entwicklung von Hoden aus der Medulla des undifferenzierten Gonadengewebes bewirkt (Mittwoch 1967, Mittwoch 1969, Baker 1972).

Der Einfluß der von diesen Hoden gebildeten Androgene beginnt schon sehr bald im fötalen Leben nach der Differenzierung der Leydigzellen (Jost 1972). Durch die folgende Androgensekretion wird eine von Natur aus weibliche Entwicklungstendenz ("basic femaleness") der ursprünglich bisexuell angelegten Geschlechtsanlage gehemmt und eine männliche Ausbildung erreicht. Das Fehlen einer rechtzeitigen Wirkung der Androgene während dieser Periode erklärt z.B. einen Pseudohermaphroditismus (Jost 1965, Hohlweg 1968, Neumann 1970). So wurde eine Androgensynthese in den Hoden in der frühen Fötalzeit bei zahlreichen Säugetierspezies, wie z.B. Mensch (Serra et al. 1970, Kelch et al. 1971, Mathur et al. 1972, Siiteri & Wilson 1974, Taylor et al. 1974), Rhesusaffe (Resko et al. 1973), Schaf (Attal 1969), Schwein (Moon et al. 1973, Meusy-Desolle 1974), Kaninchen

(Lipsett & Tullner 1965, Wilson & Siiteri 1973), Ratte, Gürteltier, Meerschwein und Hund (Bloch 1967, Warren et al. 1972) festgestellt. Es wurde auch nachgewiesen, daß männliche Föten während dieser frühen Periode eine höhere Testosteronproduktion als die weiblichen aufweisen, wie sich aus Untersuchungen, z.B. im Fruchtwasser beim Menschen (Dörner et al. 1973, Younglai & Lin 1973), sowie im fötalen Plasma bei Mensch, Affe und Schwein ergab (Abramovich & Rowe 1973, Abramovich 1974, Resko et al. 1973, Meusy-Desolle 1974). Im Gegensatz dazu ergibt sich - wie Beobachtungen beim Menschen zeigten - während der präpuberalen Periode kein signifikanter Unterschied in den Testosteronkonzentrationen im Plasma zwischen männlichen und weiblichen Individuen (Forest et al. 1973).

Im allgemeinen wird ein Abfall der Androgenkonzentrationen im Fötus vor der Geburt (der bei den verschiedenen Spezies unterschiedlich ist) festgestellt (Wilson & Siiteri 1973, Meusy-Desolle 1974, Siiteri & Wilson 1974); die Androgenkonzentrationen verharren auf diesen Basiswerten bis zum Anfang der Pubertät (Thompson et al. 1972, Knorr et al. 1974, Lee et al. 1974).

Über die vorliegende Arbeit betreffende Spezies Rind liegen erste Beobachtungen von Karg & Struck (1966), Struck & Karg (1967) und Struck et al. (1968) vor, aus denen hervorgeht, daß bis zum 7. Monat der Gravidität ein Anstieg der Androstendion- und Testosteronkonzentrationen in den Hoden beobachtet wird. Hierbei überwiegen die Testosteronwerte die Androstendionwerte. Ab dem 7. Monat der Gravidität bis zur Geburt findet ein starker Abfall beider Androgene statt. Ähnliche Resultate ergaben die Untersuchungen der Arbeitsgruppe Hafs (Mongkonpunya et al. 1973, Hafs 1974), die bei männlichen Föten im Plasma die höchste Testosteronkonzentration am Tag 90 messen konnten, niedrigere Werte am Tag 180 und die niedrigsten

Werte am Tag 260. Die Tatsache, daß höhere Testosteronkonzentrationen in der Arteria umbilicalis als in der Vena umbilicalis gefunden werden, und daß stets höhere Testosteronwerte beim männlichen im Vergleich zu weiblichen Föten gefunden werden (abnehmende Divergenz bis zur Geburt), veranlassen Hafs zu der Aussage, daß die gemessenen Androgene fast ausschließlich fötalen und nicht plazentären Ursprungs sind. Diese Aussage wird durch Untersuchungen von Kim et al. (1972) und Challis et al. (1973) bestätigt, die im Serum männlicher Rinderföten höhere Testosteronkonzentrationen messen konnten als im Serum gleich alter weiblicher Föten.

Ein Phänomen, das im Zusammenhang mit der Geschlechtsdifferenzierung speziell bei der Spezies Rind hierzu diskutiert werden sollte, ist die sog. Zwickenbildung oder Freemartinismus (s. Übersicht bei Forbes 1946). Es handelt sich dabei um die Tatsache, daß bei verschiedengeschlechtlicher Zwillingssträchtigkeit in einer Vielzahl der Fälle die Entwicklung der Geschlechtsorgane des weiblichen Partners während der Fötalzeit fast völlig unterdrückt wird. Da durch eine einfache Androgenbehandlung die Entwicklung des Müllerschen Gangsystems beim weiblichen Tier nicht gehemmt werden kann, wird angenommen, daß hierfür nicht die von den Leydigzellen produzierten Androgene verantwortlich sind, sondern daß aufgrund plazentärer Anastomosen übergewanderte genetisch männliche Primordialkeimzellen sich in der weiblichen Keimanlage ansiedeln und dort durch einen bisher noch nicht identifizierten Wirkstoff die weibliche Geschlechtsentwicklung unterdrücken (Jost & Prepin 1966, Jost et al. 1971).

Spezielle Untersuchungen über die Rolle der Androgene in der Geschlechtsdifferenzierung während des Fötallebens beim Rehwild, der zweiten in dieser Arbeit angesprochenen Spezies liegen nicht vor.

Sexualdifferenzierung im Zentralnervensystem

Ebenso wie bei der ursprünglichen Geschlechtsanlage weisen die primordialen Sexualzentren im Hypothalamus (s. Kapitel 1.2.) eine weibliche Entwicklungstendenz auf, d.h. eine Zyklusperiodizität in der Steuerung der Gonadotropinsekretion wird am Anfang der Pubertät auftreten. Werden aber in einer bestimmten Entwicklungsphase der Sexualdifferenzierung Androgene wirksam, so erfolgt - unabhängig vom chromosomalen Geschlecht - eine Umprägung des potentiell weiblichen, d.h. zyklisch-agierenden Sexualzentrums in ein männliches, d.h. tonisch-agierendes Sexualzentrum von azyklischem Funktionstyp (Gorsky & Wagner 1965). Diese Differenzierung ist irreversibel (Dawes 1969). Diese Untersuchungen wurden vorwiegend an kleinen Nagetieren, wie z.B. Ratten, durchgeführt. Entsprechende Untersuchungen für das Rind und Rehwild liegen nicht vor.

1.3.2. Pubertät und Sexualreife

Allgemein wird die Phase zwischen Geburt und Pubertät als präpuberale Periode bezeichnet.

Die Pubertät ist dann die Zeitspanne, in der die allmähliche Umstellung von juvenilen zu geschlechtsreifen, d.h. aktiv fortpflanzungsfähigen Individuen sich deutlich bemerkbar macht. In dieser Phase zeigt sich ein beschleunigtes Wachstum der Sexualorgane; die Gametogenese geht bis zu den reifen Stadien, parallel dazu zeigt sich eine allgemein beschleunigte körperliche Entwicklung. Die Sexual- oder Geschlechtsreife ist der Zeitraum, während dessen eine Fortpflanzungsfähigkeit vorhanden ist, d.h. die Geschlechtsorgane sind völlig entwickelt und funktionsfähig (Kolb 1967, Emmens 1969).

1.3.2.1. Desensibilisierungstheorie

Das Eintreten der Pubertät ist die Folge noch nicht erkannter neuroendokriner Regelmechanismen. Als theoretisches Konzept wird heute noch die sog. Desensibilisierungstheorie allgemein akzeptiert, der folgende Aussage zugrunde liegt: Die geringe Sekretion von präpuberalen Sexualsteroiden soll vor der Pubertät einen größeren inhibitorischen Einfluß auf die Gonadotropin-Ausschüttung ausüben als nach der Pubertät. Der infantile präpuberale Zustand ist dadurch gekennzeichnet, daß der Hypothalamus bereits auf kleine Steroidhormon-Mengen sensibel reagiert und diese als Maxima registriert. Die geringe Steroidkonzentration soll im Sinne eines negativen Feed-Back-Mechanismus, also einer Hemmung, wirken. Mit zunehmendem Alter soll nun die Reizschwelle des Hypothalamus durch Abnahme seiner Empfindlichkeit erhöht werden, d.h. erst ein hoher Hormonspiegel wird als Norm empfunden (McCann & Ramirez 1964). Speziell für das männliche Individuum würde das bedeuten, daß durch die Verschiebung der hypothalamischen Reizschwelle die Testes zu einer vermehrten Androgenproduktion angeregt werden, wodurch dann die in Kapitel 1.3.3.3. beschriebenen physiologischen Veränderungen induziert werden.

Über einen Desensibilisierungs-Effekt im Hypothalamus berichtete Hohlweg bereits 1934, der nach dem Absetzen einer Östrogen-Behandlung bei erwachsenen weiblichen Ratten folgende Beobachtung machte: "Durch eine Follikelhormonzufuhr (Östrogen) wird durch das Sexualzentrum die gonadotrope Sekretion des Hypophysenvorderlappens und damit auch die Funktion der weiblichen Keimdrüsen (Ovarien) selbst gehemmt. Es kommt jedoch nach einiger Zeit zu einer Desensibilisierung des hypothalamischen Zentrums gegenüber einem erhöhten Sexualhormonspiegel. Wenn die Hormoninjektion ausgesetzt wird, so ist die hemmende Wirkung einer bestimmten

Menge von endogenen Östrogenen durch die geringere Empfindlichkeit des Zentrums schwächer als vor der Behandlung. Es kommt daher zu einer Steigerung der gonadotropen Sekretion des Hypophysenvorderlappens und dadurch zu einer erhöhten Tätigkeit der Gonaden selbst". Ramirez und McCann (1963) geben an, daß sich zur Zeit der Pubertät die quantitativen Beziehungen im Regelkreis des Gonaden-Hypophysen-Hypothalamus-Systems ändern; Gonadotropine werden nun in größeren Mengen freigesetzt und die Feed-Back-Mechanismen aktiviert. Versuche, die speziell beim Rind und Schwein durchgeführt wurden, stellen die allgemeine Gültigkeit dieser Desensibilisierungstheorie jedoch etwas in Frage. So konnten Schams & Butz (1972) bei Untersuchungen an männlichen und weiblichen Rindern in der Zeitspanne von der Geburt bis zur Pubertät einen konstanten LH-Basissspiegel im Plasma beobachten. Während die männlichen Tiere jedoch anhaltend gleichmäßige LH-Werte zeigten, ließ sich bei den weiblichen Tieren ein unregelmäßiger wellenartiger LH-Freisetzungsrythmus mit gehäuftem Auftreten von LH-Peaks bis zu 30 ng/ml Plasma von der 6. bis 16. und 24. bis 40. Woche p.p. erkennen. In ähnlichen Untersuchungen bei Bullen fanden Rawlings et al. (1972) keine signifikanten Änderungen in den LH-Konzentrationen zwischen dem 4. und dem 10. Lebensmonat. Lediglich im 2. und 11. Lebensmonat war eine geringe Anstiegstendenz der LH-Konzentrationen von 0,5 auf 1,6 ng/ml Plasma zu beobachten. Versuche beim Göttinger-Minischwein zeigten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen in den LH-Konzentrationen im Plasma von der Geburt bis zur Pubertät (Elsaesser et al. 1973).

In der Diskussion (s. Kapitel 4.2.1.) wird im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchungen auf diese Beobachtung weiter eingegangen werden.

1.3.2.2. Allgemeine Einflüsse auf die Sexualfunktion

Saisonaler Einfluß: Die Jahreszeit kann sich - mit starken Unterschieden von Spezies zu Spezies - auf die Aufrechterhaltung der Sexualfunktion bemerkbar machen. Dies zeigt sich z.B. an der Tatsache, daß bei verschiedenen Wildsäugetieren, die in nördlichen oder südlichen Zonen (d.h. Breitengrade) leben, d.h. in Zonen, die durch starke jahreszeitliche Fluktuationen in der Tageslichtlänge gekennzeichnet sind, Geburt und Laktation stets zur Zeit der geeignetsten Bedingungen für das Überleben der Neugeborenen stattfinden (Marshall 1936). Entsprechend zeigen diese Tiere bei vielen anderen Fortpflanzungsphänomenen, wie z.B. Paarung, Befruchtung und Gravidität eine Abhängigkeit von der Saison (s. bei Millar 1972).

Die Abhängigkeit des Fortpflanzungsgeschehens von der Saison bei Wildtieren konnte experimentell nachgewiesen werden: Rotwild (*Cervus elaphus*), das in England mit abnehmender Tageslichtlänge normalerweise nur einmal im Jahr (September - Oktober) Brunft zeigt, wurde kurz danach von dort nach Neuseeland transportiert und zeigte - nach Anpassung an den dortigen Rhythmus der Tageslichtlänge - erneut im Mai eine Brunftperiode. Entsprechende Anpassungsphänomene zeigen sich bei Tieren, die von Neuseeland nach England transportiert wurden (s. bei Sadleir 1972).

Speziell beim Rehwild (*Capreolus capreolus*) gilt für die Klimaverhältnisse in Deutschland, daß die Brunftperiode von Mitte Juli bis Mitte August (manchmal bis Ende Oktober) stattfindet. Nach der Befruchtung entwickelt sich das Ei bis zur Blastozystenphase und wächst während der Monate von August bis Dezember nur von 0,1 auf 2 mm im Uterus weiter. Diese Periode wird als "Eiruhe" bezeichnet. Nachher wird eine rasche Entwicklung des Trophoblasten festgestellt; die Implantation findet erst statt, wenn der Embryo eine Länge von 20 mm hat (Short & Hay 1964).

Die Kitze (1 bis 3 pro Geiß) werden dann nach einer Graviditätsperiode von insgesamt 9 Monaten im Frühling (Mitte Mai bis Mitte Juni) geboren (Asdell 1964). Der Zeitraum zwischen zwei Brunftperioden ist beim männlichen sowie beim nicht graviden weiblichen Tier von einer sexuellen Inaktivität gekennzeichnet; die Hoden sind vom Scrotum ins Abdomen zurückgezogen, die Gametogenese ruht bei beiden Geschlechtern, und die Gonaden ähneln denen von präpuberalen Individuen (Asdell 1964, Nalbandov 1964). Beobachtungen haben gezeigt, daß sowohl bei Tieren, die zum ersten Mal Paarungsverhalten zeigen (puberale Tiere), als auch bei erwachsenen Tieren die Sexualaktivität gleichzeitig stattfindet. Das bedeutet, daß in Vorbereitung auf diese Brunftperiode die Anbildung der noch unterentwickelten Geschlechtsorgane der juvenilen (präpuberalen) bzw. die erneute Anbildung der zurückgebildeten Geschlechtsorgane der erwachsenen Tiere etwa parallel verläuft (Asdell 1946). Demzufolge kann - wie von Karg (1969) formuliert wurde - auch bei den erwachsenen Tieren bezüglich saisonbedingter Sexualaktivität von einer sich jährlich wiederholenden Pubertätsphase gesprochen werden.

Bei den domestizierten Nutztieren weist das Fortpflanzungsgeschehen noch bei einigen Spezies, wie Ziege, Schaf und in geringem Maße auch beim Pferd, eine Saisonabhängigkeit auf. Entsprechend, wie oben für die Wildtiere geschildert, sind diese Phänomene besonders in Zonen mit starken saisonalen Tageslichtdauer-Schwankungen ausgeprägt (Cupps et al. 1969, Ginther et al. 1972). Dadurch kann auch der Eintritt der Pubertät beeinflußt werden, wie Beobachtungen beim Schaf ergaben. Weibliche Lämmer, die im Frühling geboren sind, werden im Herbst des gleichen Jahres in die Pubertät kommen. Wenn jedoch die Lämmer im späten Frühling oder im frühen Sommer geboren sind,

wird die Pubertät erst im Herbst des folgenden Jahres eintreten, obwohl die Tiere schon zu einem viel früheren Zeitpunkt den gleichen körperlichen Gewichtsstand erreicht hatten, wie ihn die im Frühjahr geborenen Lämmer zum Zeitpunkt der Pubertät aufwiesen (McDonald 1969).

Vom Ziegenbock ist bekannt, daß die Sexualfunktion über das ganze Jahr aufrecht erhalten wird, wobei sich jedoch quantitative Unterschiede ergeben. Während der Paarungszeit im Herbst zeigen sowohl das Germinativum als auch die Androgenproduktion und die damit eng verbundene Sekretion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen einen optimalen Funktionszustand. Während sich die Funktion des Germinativums (Spermatogenese) im weiteren Verlauf des Jahres nicht verändert, zeigt die Androgenproduktion und damit die Funktion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen einen starken Rückgang zwischen den Paarungszeiten (Leidl 1958, Leidl et al. 1970).

Fütterung: Hinsichtlich einer äußeren Beeinflussung der Pubertät sind für die Spezies Rind insbesondere Fütterungs-Untersuchungen von Bedeutung. Allgemein kann gesagt werden, daß im Mangelzustand der Eintritt der Pubertät verzögert ist und das weitere Fortpflanzungsgeschehen negativ beeinflußt werden kann. Zahlreiche Versuche beim Bullen, Eber, Schafbock und Hengst haben gezeigt, daß die Entwicklung der Sexualfunktion eine bestimmte Energieaufnahme voraussetzt (Moustgaard 1969). So kann durch eine hohe Energieaufnahme der Eintritt der Pubertät vorverlegt werden (Almqvist & Barber 1974). Es zeigte sich z.B., daß Partner von Zwillingskälbern der Höhenfleckviehrasse, die im Alter von 15 - 21 Wochen mit einem zusätzlichen ad libitum Kraftfutterangebot ernährt wurden, im Vergleich zu den Kontrollpartnern eine gewisse Beschleunigung bezüglich des Einsetzens von Libido, Erektion, Ausschachten des Penis, Lösung des Präputialblattes und Nachstoß aufwiesen (Leidl & Biegert 1967).

1.3.2.3. Wirkungen im genitalen und extragenitalen Bereich

Mit dem Eintritt der Pubertät zeigen sich deutlich die androgenen Wirkungen im genitalen und extragenitalen Bereich. Aufzeichnungen über die Abhängigkeit der Entwicklung bestimmter Teile und Funktionen des Organismus von der Anwesenheit der Hoden finden sich bereits im Schrifttum der Antike; so berichtet z.B. Aristoteles bereits 384 - 322 v. Chr. über Kastrationseffekte beim Menschen (s. bei Voss & Oertel 1973).

Im Genitalbereich fördern die Androgene direkt die Entwicklung und Funktion des akzessorischen Geschlechtsapparates, also Nebenhoden (Epididymis), Samenleiter (Ductus deferentis), Samenleiterampulle (soweit vorhanden), Samenbläschen (Glandula vesiculosa), Prostata (Glandula prostatica), Bulbo-Urethraldrüsen (Glandula bulbourethralis), Penis und Scrotum (Nalbandov 1964, Ortavant et al. 1969, Faulkner 1969, Mann 1972). Aufgrund des engen Zusammenhanges, der zwischen der Funktion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen - insbesondere der Fruktosesekretion aus den Samenbläschen - und der Androgenproduktion besteht, konnte z.B. als Parameter für die Androgensekretion die Bestimmung von Fruktose im Ejakulat angewandt werden (Mann 1964, Mann 1969, Emmens 1969, Mann et al. 1971). McMillan und Hafs (1969) und Hafs (1974) berichteten, daß die Fruktosekonzentration im Sekret der Samenbläschen beim Bullen zwischen dem 3. und 5. Lebensmonat ansteigt, dann unverändert bleibt und zwischen dem 7. und 9. Lebensmonat nochmals ansteigt. Sie schlossen daraus, daß die Pubertät möglicherweise in zwei Phasen abläuft, die erste um den 4. Lebensmonat herum und die zweite zwischen dem 7. und 9. Lebensmonat (s. auch Kapitel 4.2.1.).

Bezüglich der Spermatogenese wird diskutiert, daß den Androgenen eine allgemeine fördernde Wirkung zukommt (Nalbandov 1964, Hafez 1968). Versuche bei hypophysektomierten Lämmern haben jedoch gezeigt, daß eine alleinige Testosteron- bzw. Testosteron- und FSH-Verabreichung keine Wirkung auf die Entwicklung und den Zellinhalt der Tubuli seminiferi ausübt. Lediglich die Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen wurde nach der Testosteronverabreichung stark positiv beeinflusst. Dagegen führte eine gemeinsame Verabreichung von LH und FSH zu einer schnellen Gewichtszunahme der Hoden und einer Differenzierung der germinativen Zellen (Courrot 1971).

Hinsichtlich der Spermatogenese beim Bullen kann gesagt werden, daß bei der überwiegenden Mehrzahl der Bullenkälber die Funktionsabläufe bis hin zu den Reifestadien zwischen dem 5. und 7. Lebensmonat einzusetzen beginnen. Werden 2 Monate für die Samenbildung und -reifung dazu gerechnet, dann kann als Durchschnittsalter für die Geschlechtsreife eines jungen Bullen der 7. und 9. Lebensmonat angegeben werden (Hahn & Krause 1969). Zahlreiche Versuche bei verschiedenen Säugetierspezies, wie z.B. Rhesusaffe (Eaton et al. 1973, Resko & Phoenix 1972), Rotwild (Lincoln et al. 1970, Lincoln et al. 1972) und Ratte (Davidson & Bloch 1966), haben gezeigt, daß das Sexualverhalten oder Paarungsverhalten bei männlichen Tieren fast ausschließlich von der Wirkung der Androgene im Zentralnervensystem abhängig ist (Davidson & Levine 1972). Im engen Zusammenhang mit dem Sexualverhalten stehen andere Verhaltensweisen, wie Kampftrieb, Aggressivität und die soziale Rangordnung (Rose et al. 1971, Neumann & Steinbeck 1971, Jainudeen et al. 1971). Diese absolute Androgenabhängigkeit muß jedoch etwas eingeschränkt werden, da auch nach Entfernung der Keimdrüsen infolge einer "Gewöhnung" das Paarungsverhalten (Libido) über einen längeren Zeitraum aufrecht

erhalten werden kann. Unter Gewöhnung muß hier eine sexuelle Erfahrung verstanden werden, d.h. es bildet sich ein Reflex aus, der die Libido auch ohne Androgenwirkung zunächst aufrecht erhält. Bei Rattenböcken dauert es z.B. 4 bis 10 Wochen, bis nach der Kastration der Sexualtrieb völlig erloschen ist; in Einzelfällen war er noch 5 Monate nach der Kastration fast ungestört vorhanden. Bei Hunden wurde bis zu 5 Jahren nach der Kastration eine fast unveränderte Libido festgestellt (Neumann & Steinbeck 1971).

Im extragenitalen nicht unmittelbar mit der Fortpflanzung im Zusammenhang stehenden Bereich fördern die Androgene einen anabolen Stoffwechsel; Muskel- und Knochenwachstum sind erhöht. Einer Androgenverabreichung folgt die Retention von Stickstoff, Phosphor und Kalium (Briggs & Brotherton 1970, Knorr et al. 1974, Bubenik & Brown 1974). Diese anabole Wirkung ist durch einen starken Fleischansatz und verminderten Fettansatz charakterisiert, wobei jedoch nicht alle Muskelpartien gleichmäßig gefördert werden; so werden besonders die Vorderpartien verstärkt ausgebildet (Turner 1966). Eine wachstumsfördernde und regulierende Wirkung der Androgene zeigt sich auch deutlich bei der Geweihentwicklung bei den männlichen Cerviden. So kann z.B. die Kastrationsfolge der unterbliebenen Geweihentwicklung eines Jungtieres durch eine exogene Testosteronzufuhr kompensiert werden (Tachezy 1956).

1.4. Bisherige Untersuchungen zum Vorkommen von Androstendion und Testosteron beim Rind und Rehwild

1.4.1. Beim Rind

Erste Untersuchungen haben sich auf die Bestimmung von Androgenen in den Hoden beschränkt. Die von Lindner (1959) und Lindner & Mann (1960) gemessenen Androgengehalte (Testosteron und Androstendion) bezogen auf Gesamthoden schwankten zwischen 4.7 µg und 61 µg vom 39. bis 90. Lebenstag, 31 µg bis 475 µg von der 14. bis 22. Lebenswoche und zwischen 155 µg vom ca. 10. Lebensmonat bis 3450 µg im ca. 17. Lebensjahr. Das Androstendion/Testosteron-Verhältnis in den Hoden nahm mit dem Alter ab. Nachdem zunächst Androstendion das vorherrschende Hormon war, lag etwa im 4. Lebensmonat das Verhältnis von Androstendion/Testosteron bei ca. 1 : 1; im 9. Lebensmonat lag es bei 1 : 10. Ein ähnliches Verhältnis zwischen Testosteron und Androstendion in den Hoden fanden Struck & Karg (1967) bei zwei verschieden alten Kälbern.

Die Testosteron- und Androstendionkonzentrationen in der Vena spermatica beim Rind wurden ebenfalls von Lindner (1959, 1961) gemessen. Bei diesen Untersuchungen ergab sich - ähnlich wie in den Hoden -, daß die Androstendionkonzentration in der Vena spermatica bei 3 Monate alten Kälbern höher als die Testosteronkonzentration ist; bei 4 bis 7 Monate alten Kälbern nimmt die Androstendionkonzentration ab und bei erwachsenen Tieren ist ein Überwiegen der Testosteronkonzentration zu beobachten. Für den erwachsenen Bullen geben Savard et al. (1961) eine Gesamtandrogen-Konzentration von 78 bis 177 ng/ml Plasma in der Vena spermatica an.

Bestimmungen der Testosteron- und Androstendionkonzentration im peripheren Plasma von Bullen von der Geburt bis zum 12. Lebensmonat wurden von Rawlings et al. (1972)

durchgeführt; die Tiere wurden in den verschiedenen Altersabschnitten geschlachtet, wobei dann auch die Blutentnahmen erfolgten. Dabei ergab sich, daß die Testosteronwerte innerhalb der einzelnen Altersgruppen erheblich schwankten. Im allgemeinen lagen sie zwischen nicht mehr meßbaren Werten und 1 ng/ml Plasma während der präpuberalen Periode und zwischen $0,3 \pm 0,5$ und $4,8 \pm 2,0$ ng/ml Plasma von der Zeit der Pubertät bis zum 12. Lebensmonat. Es ergab sich eine positive Korrelation zwischen den Testosteronwerten, der Fruktosekonzentration und der Spermakonzentration. Die Androstendionwerte zeigten Konzentrationen von $10,0 \pm 9,5$ bzw. $0,1$ ng/ml Plasma am 1. bzw. 6. Lebensmonat; nach der Pubertät wurde lediglich am 12. Lebensmonat eine Konzentration von $1,83 \pm 1,6$ ng/ml Plasma gemessen. Swanson et al. (1971) maßen die Testosteronkonzentrationen im peripheren Blut in einer Gruppe von 51 Hereford Bullen vom 10. bis zum 13. Lebensmonat. Die Testosteronwerte waren durchschnittlich 5,54; 4,26; 4,34 und 6,30 ng/ml Plasma im 10., 11., 12. bzw. 12.5 Lebensmonat. Auch bei etwas älteren Tieren (1,5 - 2,5 Jahre) wurden Testosteronwerte in der gleichen Größenordnung gemessen (Smith et al. 1973). Fast doppelt so hohe Werte (9,3 ng/ml Plasma) wurden von der gleichen Autorengruppe bei 3 - 6 Jahre alten Bullen gemessen. Während für den Mann bekannt ist, daß die Testosteronkonzentrationen im peripheren Plasma deutlichen Tagesschwankungen unterworfen sind (Boon et al. 1972, Alford et al. 1973a, Alford et al. 1973b) mit höchsten Werten am Morgen (4 - 8 Uhr) und niedrigsten am Abend (18 - 20 Uhr) (Rose et al. 1972, Barbeira et al. 1973, Bodenheimer et al. 1973, Lacerda et al. 1973, Piro et al. 1973, Leymarie et al. 1973, Leymarie et al. 1974), konnten entsprechende Beobachtungen für den Bullen bisher noch nicht gemacht werden.

Katongole et al. (1970) sowie Smith et al. (1973) konnten im Verlauf eines Tages starke Schwankungen der Testosteronkonzentration im peripheren Plasma messen; Zuordnungen zur Tageslichtlänge, bzw. Schlaf und Fütterung konnten jedoch nicht getroffen werden. Deutlich erhöhte Testosteronkonzentrationen im Plasma wurden 5 und 30 Minuten nach der Ejakulation gefunden. Die Werte bei erwachsenen Bullen lagen bei ca. 6,5 ng/ml vor der Ejakulation und 10,6 bzw. 10,9 ng/ml nach der Ejakulation (Katongole et al. 1970, Smith et al. 1973).

1.4.2. Beim Rehwild

Die Testosteronkonzentrationen in den Hoden beim Rehbock (*Capreolus capreolus*) wurden von Short & Mann (1966) bestimmt. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen sind in Abbildung 5 dargestellt. Die Testosteronkonzentration in den Hoden war sehr niedrig im Januar, zeigte dann ab Februar einen mehr oder weniger kontinuierlichen Anstieg bis Mitte Juli. Danach folgte ein starker Abfall der Testosteronkonzentration noch innerhalb der Brunftsaison. Die Konzentrationen blieben dann weiter auf Basiswerten bis Ende Dezember.

Diese Befunde zeigen eine gute Korrelation zu den Untersuchungsergebnissen von Brüggemann et al. (1965), die für das Kernvolumen der Leydigzellen, das Hodengewicht, das Vesikulardrüsengewicht sowie die LH-Konzentration in der Hypophyse zuzuordnende Verlaufskurven erstellen konnten (s. Abbildung 6).

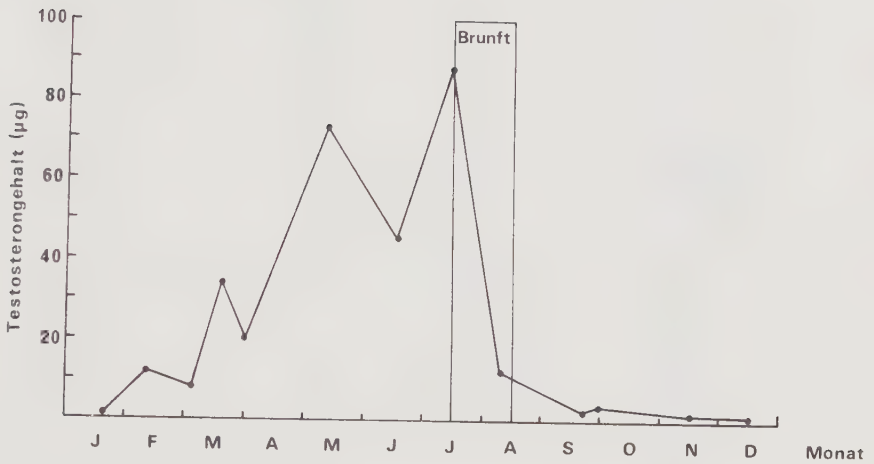


Abb. 5 Testosterongehalt in Hoden beim Rehbock
im Verlauf des Jahres (Short & Mann 1966)

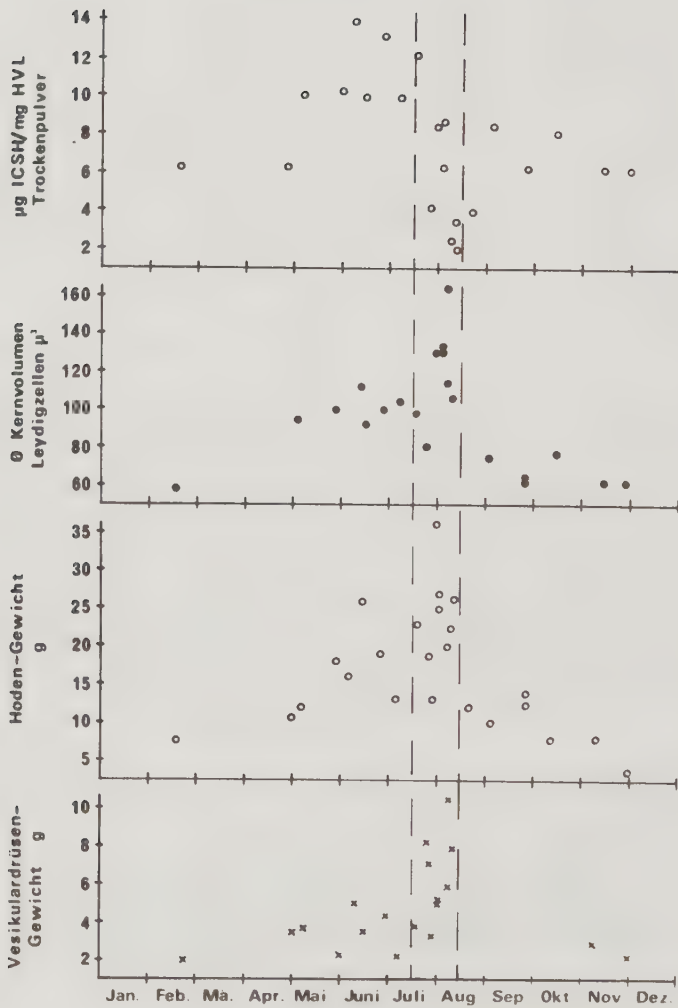


Abb. 6 Drüsenveränderungen bei Rehböcken in
Abhängigkeit von der Saison
(Brüggemann et al. 1965)

Über das Vorkommen von Androgenen im Blut vom Rehwild (*Capreolus capreolus*) liegen bisher keine Daten vor. Lediglich bei anderen Individuen der Familie *Odocoileinae* (White-Tail Deer) und bei Individuen der Familie *Antilocaprinae* (Impala) wurden solche Untersuchungen durchgeführt. McMillin et al. (1974) berichteten über Untersuchungen am erwachsenen männlichen "White-Tail Deer" (*Odocoileus virginianus borealis*), der in den USA vorkommt. Blutproben wurden monatlich von der Vena jugularis und vom Herz (sofort nach dem Erlegen) gewonnen, und die Testosteronkonzentrationen untersucht. Es zeigten sich bei ihren Untersuchungen Testosteronkonzentrationen von durchschnittlich $2,1 \pm 0,5$ ng/ml Plasma von August bis November und von $0,34 \pm 0,25$ ng/ml Plasma von Dezember bis Juli. Eine positive Korrelation zwischen Hodengröße, Geweihwachstum und Testosteronkonzentration wurde gefunden. Neaves & Bramley (1971) untersuchten die Testosteronkonzentrationen im Blut von erwachsenen Impalaantilopen (*Aepyceros melampus*) in Kenia zwischen April 1970 und März 1971. Es zeigte sich dabei, daß das Territorial-Impala eine höhere Testosteronkonzentration ($14,6 \pm 7,7$ ng/ml Plasma) als das in der Rangordnung niedriger stehende Impala ($7,1 \pm 3,8$ ng/ml Plasma) aufwies.

2. Methodischer Teil

2.1. Auswahl der Methodik für die Bestimmung von Testosteron und Androstendion im Plasma

Bei der Bestimmung von Steroidhormonen im Plasma müssen die Steroide zunächst grundsätzlich extrahiert werden. Abhängig von der Bestimmungsmethode wird dieser Primär-extrakt einem mehr oder weniger intensiven Aufarbeitungsgang unterworfen. Für die eigentliche Endpunktbestimmung von Testosteron und Androstendion wurden mehrere Verfahren beschrieben, wie z.B. UV-Methode, Fluoreszenzmethode, gaschromatographische Methode und Doppelisotopenderivat-Verdünnungsmethode. Bei diesen Methoden sind für eine spezifische Endpunktbestimmung zahlreiche Reinigungsschritte notwendig (s. bei Dorfman 1962, Gray & Bacharach 1967, Butt 1967).

Die Proteinbindungsmethoden sind derzeit die am meisten verwendeten Verfahren bei der Bestimmung von Steroidhormonen. Ihre besonderen Vorteile gegenüber den physikalisch-chemischen Meßverfahren bestehen in ihrer hohen Empfindlichkeit, Spezifität und der raschen Durchführbarkeit. Eine vergleichende Gegenüberstellung der Methoden wurde von Hoffmann (1972) gemacht. Aufgrund der Vorteile der Proteinbindungsmethoden sollte für vorliegende Untersuchungen von Anfang an ein solches Verfahren eingesetzt werden.

2.2. Angewandte radioimmunologische Bestimmungsverfahren

2.2.1. Prinzip der radioimmunologischen Steroid- hormonbestimmung

Auch bei der radioimmunologischen Bestimmung von Steroidhormonen handelt es sich im Prinzip nach um Proteinbindungsmethoden, auf die im folgenden kurz eingegangen werden soll. Die Eigenschaft einiger Steroide, von bestimmten Proteinen gebunden zu werden, wurde erstmals für die quantitative Bestimmung von Glucocorticoiden herangezogen (Murphy et al. 1963, Murphy 1964, Murphy & Pattee 1964, Murphy 1967). Bei dieser Methode wird eine bestimmte Lösung des Steroidbindenden Globulins (in diesem Fall das Corticosteroid-Bindendes Globulin = CBG, das im Plasma verschiedener Spezies gefunden wird) mit radioaktiv markiertem Steroid, z.B. ^3H -Corticosteron, gesättigt. Wenn zusätzliches, nicht markiertes Steroid (Eichpunkte bzw. zu messendes Steroid) zu der mit radioaktivem Hormon gesättigten Globulinlösung zugegeben wird, stellt sich gemäß dem Massenwirkungsgesetz ein neuer Gleichgewichtszustand ein, wobei ein Teil des markierten zugunsten des nicht markierten Steroids aus seiner Bindung am Protein verdrängt wird. Diese Verdrängung ist in einem bestimmten Größenbereich der zugesetzten Steroidmenge proportional, wobei eine Verschiebung der Radioaktivität von "gebunden" nach "frei" als Indikator für diesen Verdrängungsvorgang dient. Für die Quantifizierung der Reaktion müssen dann die noch an Proteine gebundene von den freien Steroiden getrennt werden. Diese Trennung kann z.B. durch selektive Adsorption des niedermolekularen Anteils, d.h. der "freien markierten" und "freien nicht markierten Steroide" stattfinden. Für diesen Zweck wird Holzkohle als Adsorbens häufig gebraucht.

Diese Proteinbindungsmethode wurde auch für die Bestimmung von Testosteron im Plasma angewandt. Als Bindungsprotein (s. Kapitel 1.1.3.) wurde z.B. "Sex Steroid bindendes Protein" = SBP verwendet, das von Mercier (1966) eindeutig charakterisiert werden konnte. Die Existenz dieses Plasmaproteins war jedoch schon länger bekannt; ohne es näher charakterisiert zu haben, wurde SBP-haltiges Plasma bereits früher für Meßzwecke herangezogen. Da neben zahlreichen Androgenen auch Östrogene vom gleichen Bindungsglobulin gebunden werden, sind in den meisten beschriebenen Methoden, in denen SBP als Bindungsprotein eingesetzt wurde, chromatographische Reinigungsschritte angegeben, wie z.B. Papierchromatographie (Mayes & Nugent 1968, Maeda et al. 1969), Dünnschichtchromatographie (Strickland et al. 1973, Pirke 1973), Sephadex LH 20 Säulenchromatographie (Murphy 1971, Concolino & Marocchi 1972, Ahmed 1973). Stahl et al. (1972) verwendeten Papier- und Dünnschicht-Chromatographie. Speziell für die Bestimmung von Androstendion und Testosteron werden neben dem oben erwähnten SBP heute vermehrt Antikörper als Bindungsproteine eingesetzt. Obwohl das Vorhandensein spezifischer, androgenbindender Zell-Rezeptoren bekannt ist (s. Kapitel 1.3.), wurden sie, anders als bei der Bestimmung von Östrogenen, für Meßzwecke noch nicht eingesetzt.

Die radioimmunologische Bestimmung (Radioimmunotest = RIT) - dabei werden statt Plasmaproteinen Antikörper eingesetzt - weist gegenüber der kompetitiven Proteinbindungsreaktion folgende Vorteile auf: Antikörper haben eine höhere Assoziationskonstante und somit ist die Empfindlichkeit beim RIT besser als bei der Proteinbindungsreaktion; neben den höheren Assoziationskonstanten liegt ein weiterer Vorteil bei der Verwendung von Antikörpern im Vergleich zu Plasmaproteinen darin, daß im allgemeinen eine höhere Spezifität gegenüber dem zu messenden Hormon besteht, wobei diese Spezifität zusätzlich noch durch die Art des verwendeten

Antigens beeinflusst werden kann. Es ist ja bekannt, daß Steroide mit einem Molekulargewicht von durchschnittlich 300 keine antigenen Eigenschaften besitzen. Um eine Wirksamkeit als Antigen zu erreichen, müssen die Steroide vorher an hochmolekulare Stoffe, z.B. Proteine, gekoppelt werden (Erlanger et al. 1957, Liebermann et al. 1959, Goodfriend & Sehon 1958, Goodfriend & Sehon 1960). Das Steroid wirkt dabei als Hapten, d.h. es bestimmt als determinierende Gruppe des Antigens die Spezifität der Antikörper, die dann nicht nur mit dem Steroid-Protein-Konjugat reagieren, sondern auch mit dem freien, nicht konjugierten Steroid. Die Spezifität des Antikörpers wird im wesentlichen von der Position und Art der Koppelung des Haptens an das Protein abhängen (Midgley et al. 1969).

Aufgrund der hohen Assoziationskonstanten der Antikörper wird hier die Proteinbindungsreaktion nach einem modifizierten Reaktionsschema (Hoffmann 1972) durchgeführt, dem folgendes Prinzip zu Grunde liegt: Wird eine gleichbleibende Menge ^3H -markierten Steroids vor der Zugabe der Antikörperlösung mit verschiedenen Mengen des gleichen, nicht markierten Steroids verdünnt (Isotopenverdünnung), so wird, abhängig von den Mengen des nicht markierten Steroids, mehr bzw. weniger von markiertem Steroid an den Antikörper gebunden werden. Die Bindung von ^3H -markiertem Steroid ist dabei über einen bestimmten Bereich umgekehrt proportional der Menge des zugegebenen, nicht markierten Hormons. Anhand einer Eichkurve können dann unbekannte Mengen gemessen werden. In Abbildung 7 ist das Prinzip des angewandten RIT schematisch dargestellt.

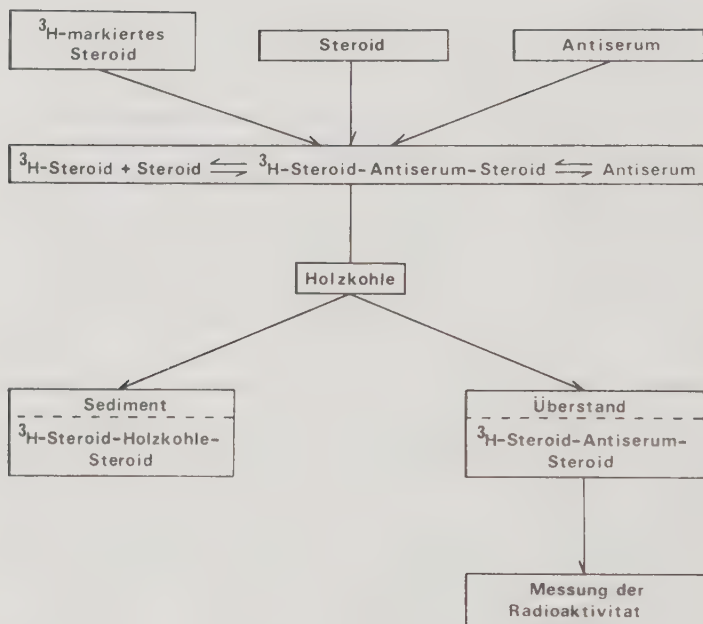


Abb. 7 Prinzip des Radioimmunotests

Der erste RIT für ein Steroidhormon wurde von Abraham (1969) für die Bestimmung von 17 β -Östradiol beschrieben. Auch für die Bestimmung von Androgenen wurde, wie schon erwähnt, über radioimmunologische Meßverfahren berichtet, wobei - abhängig von der Spezifität der verwendeten Antisera und der Frage, ob bei männlichen oder weiblichen Individuen gemessen wurde - teilweise chromatographische Schritte angewandt wurden, wie z.B. Al₂O₃-Mikrosäulen (Furuyama et al. 1970), Celite-Mikrosäulen (Kinouchi et al. 1973), Sephadex LH-20 Säulen (Collins et al. 1972), Dünnschichtchromatographie (Nieschlag & Loriaux 1972), Methoden unter Verzicht auf chromatographische Schritte beschrieben Ismail et al. (1972), Castro et al. (1973), Tyler et al. (1973), Lox et al. (1974). Ein radioimmunologisches Meßverfahren zur Bestimmung von Androstendion in Männer- und Frauen-Plasma wird von Thorneycroft et al. (1973) angegeben, wobei eine chromatographische Trennung auf Celitesäulen durchgeführt wird. Eine radioimmunologische Methode zur Bestimmung von Testosteron im Plasma vom Rind wurde erstmals von Smith & Hafs (1973) mitgeteilt.

In den folgenden Kapiteln sind die eigenen radioimmunologischen Bestimmungsverfahren beschrieben.

2.2.2. Materialien und Reagentien

Lösungsmittel:

Äther pro narcosi (Fa. Hoechst); die Flaschen wurden unmittelbar vor Gebrauch geöffnet und nur einen Tag lang verwendet. Alle übrigen Lösungsmittel (Methanol, Chloroform, Heptan, Alkohol absolut, Dichlormethan, Essigsäure-äthylester und Benzol) wurden in p.a. Qualität bezogen und vor Gebrauch destilliert.

Das verwendete Wasser wurde vor Gebrauch frisch aus einer Ionen-Austausch Anlage entnommen.

Puffer:

Phosphatpuffer (pH 7.2) setzte sich zusammen aus: 2,686 g Kaliumdihydrogenphosphat, 8,356 g Dinatriumhydrogenphosphat und 0,325 g Natriumazid, gelöst in 1 Liter Wasser. Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin (RSA-Puffer): Zu 1 Liter des oben angeführten Phosphatpuffers wurde 1 g Rinderserumalbumin (Fa. Serva, lyophil. rein 92 % min.) gegeben und zur Lösung gebracht.

Kohlensuspension:

500 mg Dextran (M = 6000 - 9000; Fa. Serva) wurden in 1 Liter Wasser gelöst und darin 5 g Holzkohle (Norit A, Partikelgröße 4 - 5 μ ; Fa. Serva) suspendiert.

Verwendete Steroid-Standardsubstanzen:

Die nicht radioaktiv markierten Steroide wurden mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (Kieselgel; System Benzol/Äthyl-Azetat 4 : 2), sowie durch Mikroschmelzpunktbestimmung auf Reinheit und Identität überprüft.

Die mit Tritium markierten Androgene, Testosteron (Androst-4-en-3-on-17-ol-1,2,6,7,- ^3H (n) 87 Ci/mmol; The Radiochemical Centre Amersham, England), Androstendion (Androst-4-en-3,17-dion-1,2,- ^3H (n) 40-60 Ci/mmol; New England Nuclear), und 5 α -Dihydrotestosteron (5 α -Androstan-17 β -ol-3-on-1 α ,2 α - ^3H (n) 47 Ci/mmol; The Radiochemical Centre Amersham, England) wurden in Mischchromatogrammen mit den entsprechenden, nicht markierten Androgenen auf Identität und radiochemische Reinheit in dem oben erwähnten Laufmittelsystem überprüft.

Adsorbentien für die Chromatographie:

Als Trägermaterial für die Säulenchromatographie wurde Sephadex LH-20 (Partikelgröße 25 - 100 μ , Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala Sweden), als Adsorbens für die Dünnschichtchromatographie Kieselgel (MN-HR/UV 254 nm, Macherey, Nagel & Co.) verwendet.

Letzteres wurde vor Gebrauch mit heißem Methanol gewaschen und dann bei 100° C getrocknet. Zur Beschichtung der Platten wurde es im Verhältnis 1 : 2 mit Wasser gemischt. 20 x 20 cm-Glasplatten wurden mit einem Desaga-Streichgerät in einer Dicke von 0.25 mm beschichtet. Anschließend wurden die Platten eine Stunde bei 110° C aktiviert.

Szintillationsflüssigkeit:

Die zur Radioaktivitätsbestimmung benötigte Szintillationsflüssigkeit wurde folgendermaßen angesetzt: 500 g Naphthalin, 35 g PPO (2,5 Diphenyloxazole) und 1,5 g POPOP (1,4 bis 2-5-Phenyloxazolyl-Benzen) wurden in 5 l Dioxan "reinst" gelöst (s. bei Neill et al. 1967). Für die Messung der Radioaktivität wurden 10 ml davon in Einweg-Niederdruck-Polyäthylenzählküvetten verbraucht.

Besondere Glaswaren und Geräte:

Einweggläser (AR-Glas 74 x 14 mm und 100 x 15 mm) wurden von der Fa. Kremer und Kreiler bezogen. Standardisierte Glasszintillationsküvetten (ca. 20 ml Inhalt mit Schraubverschlüssen aus Carbamidharz mit zinnfoliebeschichteter Korkeinlage) für die Extraktion wurden von der Fa. Zinser (Frankfurt) bezogen. Für die Säulenchromatographie wurden Glassäulen (40 cm x 10 mm) verwendet. Die Säulen hatten im oberen Teil einen Schliff (NS 14.5/23), im unteren Teil eine grobe Glasfritte und konnten durch Teflonküken auf- und zuggedreht werden.

Für die Plasmaextraktion wurde ein "Schüttelautomat mit Hin- und Herbewegung" (Geschwindigkeit 80 - 200 UpM, Fa. Edmund Bühler, Tübingen) Typ SM 2 eingesetzt.

Der zur Verfügung stehende Vakuumtrockenschrank (Typ RVT 500, Fa. W. C. Heraeus, Hanau) mit Temperatureinstellung bis 180° C und Vakuumerzeugung über eine Wasserstrahlpumpe wurde für die Abdampfung des Ätherextrakts angewandt.

2.2.3. Eingesetzte Antisera zur Bestimmung von Testosteron und Androstendion

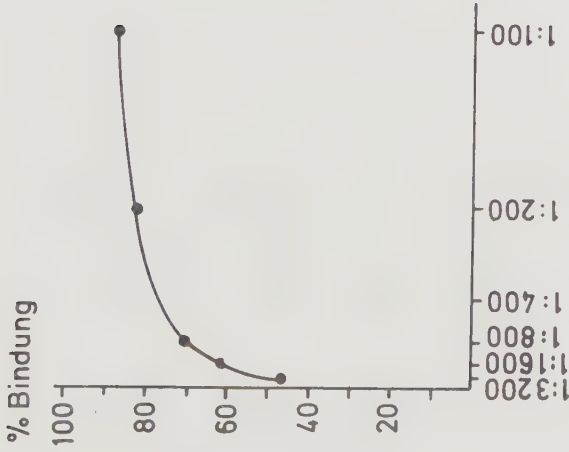
2.2.3.1. Eingesetzte Antigene und Gewinnung der Antisera

Als Antigene kamen die im Labor synthetisierten Verbindungen Testosteron-3-carboximethoxylamin-Rinderserumalbumin (Testosteron-3-CMO-RSA) und Testosteron-17-Hemisuccinat-Rinderserumalbumin (Testosteron-17-HS-RSA) zum Einsatz (s. bei Hoffmann, Kyrein & Giménez 1974). Aufgrund der Struktur des Antigens, d.h. der Blockierung der funktionellen Gruppen im Steroidmolekül durch die Kopplung an das Protein (s. Kapitel 2.2.1.), konnte angenommen werden, daß das Antiserum gegen Testosteron-3-CMO-RSA im wesentlichen gegen Testosteron und das Antiserum gegen Testosteron-17-HS-RSA gegen die beiden Steroide, Androstendion und Testosteron gerichtet ist.

Für die Immunisierung, d.h. Anregung der Antikörper-Synthese, wurden zunächst 0,5 mg des jeweiligen Antigens mit 0,5 ml Wasser und 0,5 ml komplettem Freund's Adjuvant (Difco Labs.) gemischt. Diese Suspension wurde danach, verteilt auf 4 Injektionsstellen (2 x intramuskulär und 2 x subkutan), einem Kaninchen verabreicht. Nach insgesamt 3 Boosterimpfungen wurde zwischen dem 60. und 90. Tag nach der Erstimmunisierung von den Kaninchen Blut aus der Arteria auricularis gewonnen. Nach dem Gerinnen wurde das Blut zentrifugiert, das Serum abgehebert und bei -18° C aufbewahrt.

2.2.3.2. Bestimmung der Bindungskapazität und Überprüfung auf Kreuzreaktionen

2.2.3.2.1. Antiserum gegen Testosteron



Antiserum gegen
Testosteron-17-Hemisuccinat-RSA

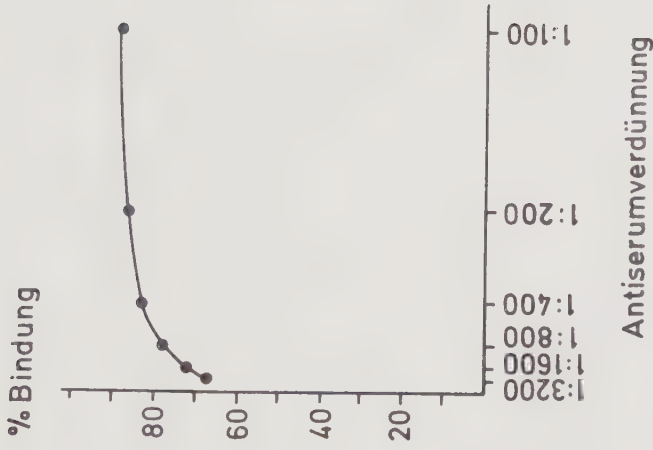
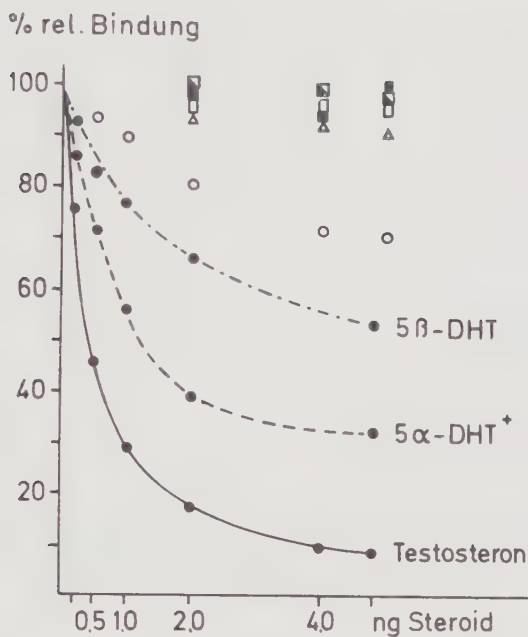


Abb. 8 Bestimmung der Bindungskapazität:

Antiserum gegen
Testosteron-3-CMO-RSA

Zur Bestimmung der Bindungskapazität als Maßstab für den erzielten Antikörpertiter wird einer jeweils konstanten Menge radioaktiv markierten Steroids ein ebenfalls konstantes Volumen (0,5 ml) steigender Serumverdünnung zugesetzt und der RIT, wie in Kapitel 2.2.5. beschrieben, durchgeführt. Die Verdünnung des Antiserums erfolgte mit RSA-Phosphatpuffer, die Verdünnungsreihe reichte von 1 : 100 bis 1 : 3200. Die gemessene Bindung des vorgelegten radioaktiven Steroids, d.h. der "Vorlage", die in 0,1 ml Phosphatpuffer gelöst ist, wird in Prozent der zugesetzten Radioaktivität ausgedrückt. Bei Bestimmung der Bindungskapazität des gegen Testosteron-3-CMO-RSA gerichteten Antiserums zeigte sich, wie aus Abbildung 8 hervorgeht, daß die Vorlage (22,4 pg Testosteron $\cong$ 14900 dpm) noch bei einer Antiserumverdünnung von 1 : 3200 zu mehr als 60 % gebunden wurde. Diese Antiserumverdünnung wurde für Testzwecke herangezogen.

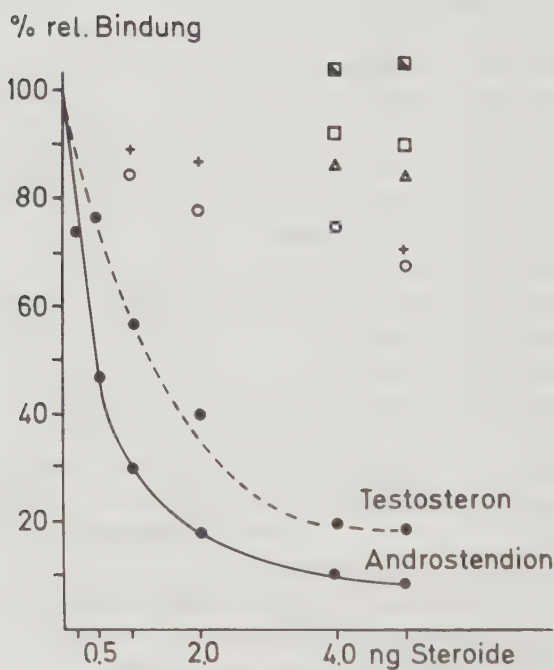
Unter Kreuzreaktion versteht man die Reaktion der gebildeten Antikörper mit anderen Verbindungen als dem eingesetzten Antigen. Das Ergebnis bei Überprüfung der Kreuzreaktivität des gegen Testosteron-3-CMO-RSA gerichteten Antiserums ist in Abbildung 9 dargestellt. Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, reagieren neben Testosteron - wenn auch deutlich abgeschwächt - die beiden Isomere 5 α - und 5 β -Dihydrotestosteron. Eine nicht nennenswerte Kreuzreaktion wird mit Androstendion beobachtet. Damit hat sich bestätigt, daß das Antigen "Testosteron-3-CMO-RSA" gegen Testosteron aber nicht gegen Androstendion gerichtete Antikörper erzeugt. Auf eine mögliche Beeinflussung des RIT durch mitextrahiertes 5 α -Dihydrotestosteron wird im Kapitel 2.2.6.1. noch ausführlicher eingegangen.



getestete Steroide :

- Androstendion
- △ Dehydroepiandrosteron
- + 5α-Dihydrotestosteron
- 17β-Östradiol
- Epitestosteron
- 5α - Androst-16-en-3-on
(Androstenon)

Abb. 9 Kreuzreaktionen verschiedener Steroide
mit Antiserum gegen Testosteron-3-CMO-RSA



getestete Steroide:

- + 5 α -Dihydrotestosteron
- Δ 5 β -Dihydrotestosteron
- Dehydroepiandrosteron
- 17 β -Östradiol
- 5 α -Androst-16-en-3-on
(Androstenon)

Abb. 10 Kreuzreaktionen verschiedener Steroide mit
Antiserum gegen Testosteron-17-Hemisuccinat-RSA

2.2.3.2.2. Antiserum gegen Androstendion

Bei der Bestimmung der Bindungskapazität des Antiserums gegen Testosteron-17-HS-RSA (Abbildung 10) wurden die gleichen Verdünnungen wie bei Überprüfung des Antiserums gegen Testosteron-3-CMO-RSA angesetzt. Als Vorlage wurden 62 pg Androstendion ($\approx$ 15600 dpm) verwendet.

Wie aus der Abbildung 8 zu erkennen ist, wurden bei einer Antiserumverdünnung von 1 : 3200 ca. 45 % der Vorlage an die Antikörper gebunden. Für die Durchführung der Androstendion-Eichkurve wurde eine Antiserum-Verdünnung von 1 : 1600 eingesetzt.

Wie ursprünglich erwartet worden war, wies das Antiserum gegen Testosteron-17-HS-RSA eine starke Kreuzreaktion mit Androstendion aber auch mit Testosteron auf (s. Abbildung 10). Aufgrund dieser Kreuzreaktionen mußten die beiden Steroide vor dem RIT chromatographisch getrennt werden (s. Kapitel 2.2.4.2.).

2.2.4. Vorbereitung der Proben für die radioimmunologische Bestimmung

2.2.4.1. Bei alleiniger Bestimmung von Testosteron

Wie schon erwähnt (s. Kapitel 2.1.), müssen die Steroidhormone auch vor dem RIT aus dem Plasma extrahiert werden. In einem ersten Vorversuch sollten verschiedene Lösungsmittel unter unterschiedlichen Extraktionsbedingungen auf ihre Eignung zur Extraktion von Testosteron überprüft werden. Dazu wurden in eine Szintillationsküvette oder in ein konisches Zentrifugenglas 36 pg ($\approx$ 24000 dpm) ^3H -Testosteron, gelöst in 0,1 ml Methanol, pipettiert und - nach Abdampfung des Methanols bei 50° C unter Stickstoff - in 0,5 ml Rinderplasma aufgenommen.

Anschließend wurde unter den verschiedenen Extraktionsbedingungen die Extraktionsausbeute (Wiederfindung) überprüft. Versuchsansatz und Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Wie aus der Tabelle zu erkennen ist, wurden als Extraktionsmittel verschiedene Mengen eines Gemisches aus Dichlormethan/Essigsäureäthylester (1/1) sowie Dichlormethan allein und Äther verwendet. Für die Plasmaextraktion wurde bei Verwendung der Szintillationsküvetten der Schüttelautomat (s. Kapitel 2.2.2.), bei Verwendung der konischen Zentrifugengläser für die Extraktion ein "Vortex-Mixer" (Scientific Industries Inc.) eingesetzt. Aus den konischen Gläsern wurde das Lösungsmittel nach Trennung der beiden Phasen mittels einer Pasteurpipette in das Testglas transferiert, bei Anwendung der Szintillationsküvetten wurde die Plasmaphase bei -20°C eingefroren und das Lösungsmittel danach in das Testglas abgekippt. Auch das im Vergleich zu H_2O schwerere Dichlormethan konnte bei schwacher Schrägstellung der Gläser während des Einfrierens anschließend abgekippt werden. Nach Evaporierung des Lösungsmittels wurde der Extrakt in 100 % Methanol gelöst und darin die Radioaktivität gemessen (s. Kapitel 2.2.5.). Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, wurde die beste Wiederfindung (92 %) nach Verwendung von 5 ml Äther als Extraktionsmittel bei einer einmaligen, 15-minutigen Extraktion am Schüttelautomat erreicht. Bei der alleinigen Bestimmung von Testosteron konnte nach Abdampfung des in ein 74 x 14 mm Einweg-Reaktionsglas transferierten Ätherüberstandes (entweder im Stickstoffstrom, bei größeren Probenserien bei 50°C in einem Vakuum-Trockenschrank; s. Kapitel 2.2.2.) direkt der RIT durchgeführt werden (s. auch Abbildung 9).

2.2.4.2. Bei gemeinsamer Bestimmung von Androstendion und Testosteron

Wie im Kapitel 2.2.4.1. beschrieben, konnten auch hier für die gemeinsame Extraktion von Androstendion und Testosteron, bei zufriedenstellender Wiederauffindung, 5 ml Äther bei einem nur 15-minütigen Extraktionsgang am Schüttelautomat verwendet werden.

Da das Antiserum gegen Androstendion eine starke Kreuzreaktion mit Testosteron aufweist (s. Abbildung 10), mußten die beiden Androgene nach der Ätherextraktion, d.h. vor dem RIT getrennt werden.

Wie von Murphy (1971) vorgeschlagen, konnte dies mit Hilfe einer Säulenchromatographie auf Sephadex LH-20 unter Verwendung des Laufmittelgemisches Heptan/Chloroform/Äthanol/Wasser (100 : 100 : 1 : 1) erreicht werden. Das Laufmittelgemisch wurde in einem Scheidetrichter angesetzt, gut geschüttelt, ca. eine Stunde stehen gelassen und unter Zurücklassung des abgeschiedenen Wasseranteiles abgelassen.

Die für vorliegende Untersuchungen angesetzten Säulen aus Sephadex LH-20 hatten eine Länge von 31 cm und einen Durchmesser von 10 mm; um Aufwirbelungen beim Auftragen der Probe zu vermeiden, wurde auf das obere Ende der Säule ein ausgestanztes "Glas-Fibre-Papier" (Whatman Glas Fibre Paper GF/A) aufgelegt.

Für die praktische Durchführung empfiehlt sich, den Primärextrakt nach Abdampfung des Äthers in 0,2 ml Laufmittel aufzunehmen und mit einer Pasteurpipette auf die Säule aufzutragen. Anschließend wurden 10 ml Laufmittel in einer Portion auf die Säule aufgebracht, die Passage durch die Säule abgewartet und als Fraktion 1 = F_1 gesammelt. Entsprechend wurden dann weitere 10 ml, 6 ml und 30 ml Laufmittel auf die Säule aufgetragen und jeweils als die Fraktionen F_2 , F_3 und F_4 gesammelt.

Tabelle 1

Extraktionsversuche für die Gewinnung von Testosteron aus Blutplasma

Lösungsmittel	Menge (ml)	Glas	Schütteln		
			Gerät	Zeit (min)	% Waf.
	2	Konisches Glas	Vortex-Mixer	2	79.0
Dichlormethan/	2, 2x	Szintillationsküvette	Schüttelautomat	15	87.0
Essigsäureäthyl-	5	"	"	15	75.0
ester 1 : 1	5, 2x	"	"	15	83.0
	2	Szintillationsküvette	Schüttelautomat	15	77.0
Dichlormethan	2, 2x	"	"	15	82.0
	5	"	"	15	79.0
	5, 2x	"	"	15	79.0
	2	Konisches Glas	Vortex-Mixer	2	77.0
Äther	2, 2x	Szintillationsküvette	Schüttelautomat	15	78.0
	5	"	"	15	92.0

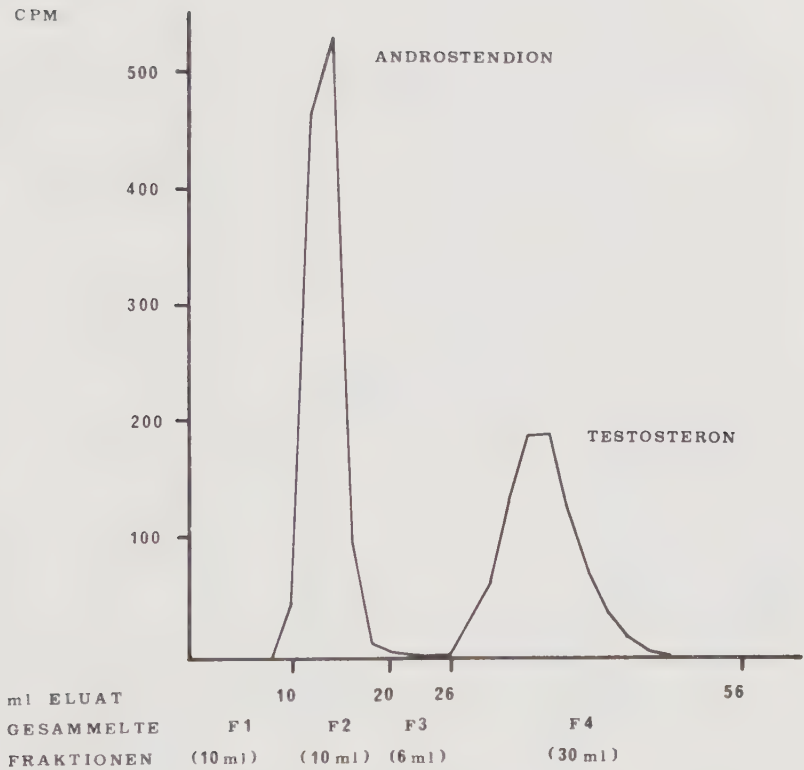


Abb. 11 Trennung von Androstendion und Testosteron
mit Sephadex LH-20 Säulenchromatographie

Fraktion F_2 enthielt das Androstendion, Fraktion F_4 das Testosteron. Wie aus Abbildung 11 zu ersehen ist, kommt es zu einer klaren Trennung von Androstendion und Testosteron. Die Androstendion-Fraktion wurde in einem 100 x 15 mm Einweg-Testglas gesammelt und bei 50° C unter Stickstoff niedergetrocknet, die Testosteron-Fraktion wurde in einem 50 ml Rundkolben gesammelt, am Rotationsverdampfer eingeeengt, mit 4 ml Dichlormethan/Essigsäureäthylester (1 : 1) in ein Testglas transferiert und ebenfalls bei 50° C unter Stickstoff niedergetrocknet.

Theoretisch könnte mit den so vorliegenden Proben der RIT durchgeführt werden. Da jedoch bei diesem etwas aufwendigeren Arbeitsgang mit methodischen Aufarbeitungsverlusten zu rechnen ist, wurde zur Kontrolle der Wiederauffindung den Proben von Anfang an ein interner Standard zugesetzt. Dazu wurden vor der Ätherextraktion in die Szintillationsküvetten jeweils 7 pg ($\hat{=}$ 1900 dpm) ^3H -Androstendion und 3 pg ($\hat{=}$ 2000 dpm) ^3H -Testosteron in Methanol gelöst zugegeben und das Methanol niedergetrocknet; erst dann wurde das Plasma einpipettiert. Der nach der Säulenchromatographie niedergetrocknete Endextrakt wurde in 1 ml Methanol aufgenommen, wovon 100 μ l zur Erfassung der Radioaktivität, d.h. Berechnung der Wiederauffindung (s. Kapitel 2.2.5.) entnommen wurden. Die verbleibenden 0,9 ml Methanol wurden erneut niedergetrocknet und der RIT durchgeführt.

In Abbildung 12 sind die Aufarbeitungsgänge zur Bestimmung von Testosteron bzw. Testosteron und Androstendion schematisch dargestellt.

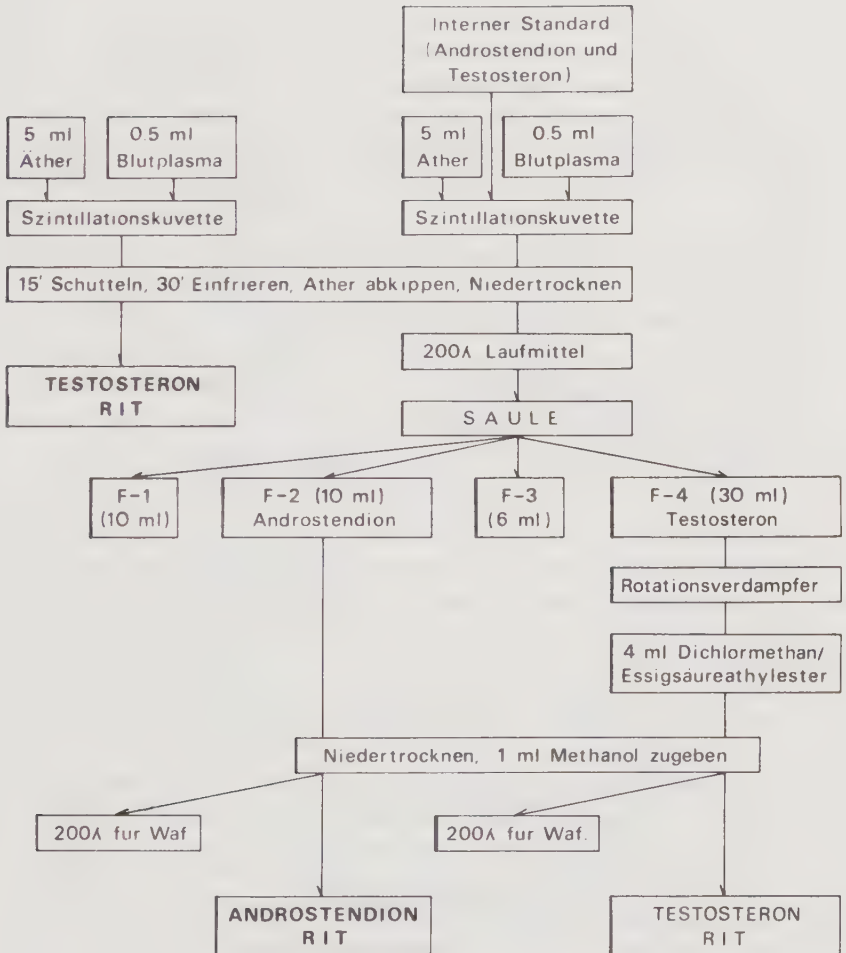


Abb. 12 Schematische Darstellung der angewandten Aufarbeitungsgänge

2.2.5. Durchführung des Radioimmunotests

Der Radioimmunotest wurde nach dem im Kapitel 2.2.1. beschriebenen und in Abbildung 4 dargestellten Prinzip durchgeführt. Zu den für den RIT vorbereiteten Plasma-proben wurden der Reihe nach das in 0,1 ml Phosphatpuffer gelöste ^3H -markierte Steroid (25 pg = 16500 dpm ^3H -Testosteron bzw. 56 pg = 15400 dpm ^3H -Androstendion) und 0,5 ml der entsprechenden Antiserumverdünnung zugegeben. Zur Auswertung des RIT wurde jeweils eine Standardkurve am Anfang und am Ende des Tests gelaufen; die Eichpunkte waren ebenfalls in 0,1 ml Phosphatpuffer gelöst. Typische Standardkurven für Testosteron bzw. Androstendion sind in den Abbildungen 13 und 14 dargestellt. Die Gesamtzahl der Proben in einem Test war auf 48 begrenzt, bedingt durch die Kapazität der zur Verfügung stehenden Kühlzentrifuge.

Die Proben wurden dann im Gestell kurz geschüttelt und in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Nach 5 Minuten wurde jede Probe an einem Vortexmixer kurz geschüttelt, ins Wasserbad zurückgestellt und nach 10 Minuten wurden die Proben "en bloc" im Gestell wieder kurz aufgeschüttelt.

Nach einer weiteren Stunde im Eisbad bei 4°C wurden 0,5 ml einer gerührten und auf 4°C gekühlten Holzkohlensuspension (s. Kapitel 2.2.2.) zugegeben. Die Proben wurden dann im Gestell 15 Sekunden lang gut geschüttelt, nochmals 5 Minuten ins Eisbad gestellt und anschließend 15 Minuten lang bei 2000 UpM und 4°C abzentrifugiert. Der Überstand wurde in eine Zählküvette mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit abgekippt und die Radioaktivität gemessen.

Berechnung der Wiederauffindung. Wie im Kapitel 2.2.4.2. beschrieben, wurde nach Durchführung der Säulenchromatographie und Aufnahme des Endextrakts in 1 ml Methanol 0,1 ml zur Berechnung der Wiederauffindung (Waf.) entnommen.

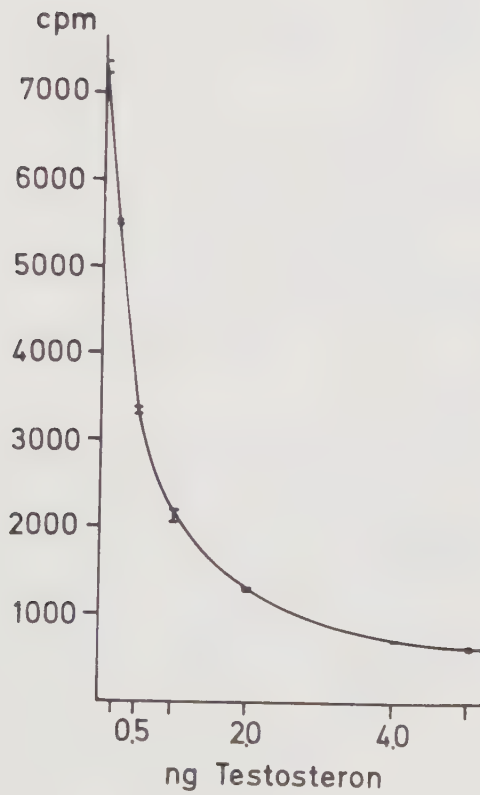


Abb. 13 Testosteron Standardkurve bei
Anwendung des RIT

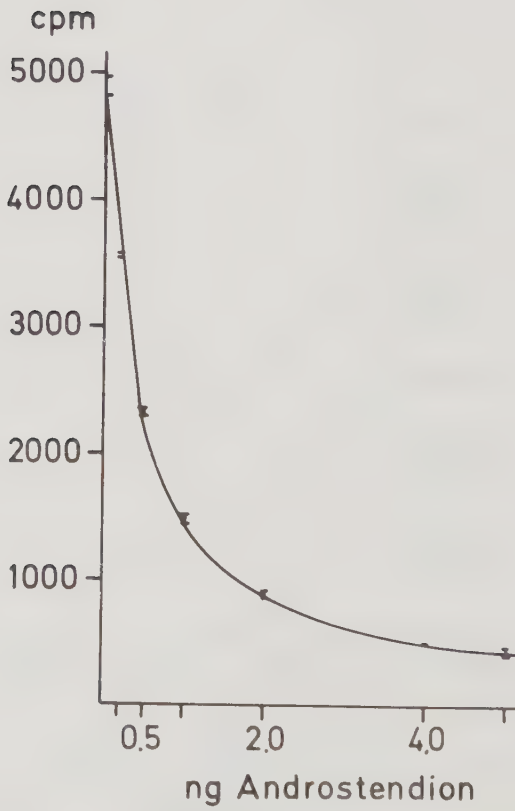


Abb. 14 Androstendion Standardkurve bei
Anwendung des RIT

Die Berechnung selbst, bezogen auf die verbleibenden 0,9 ml, wurde durch Anwendung der folgenden Formel durchgeführt:

$$\% \text{ Waf} = \frac{(Za - Bg) \cdot 100}{Zs - Bg} \cdot \frac{Vt - Va}{Va}$$

Za = Zählwert des 100 λ Aliquots

Zs = Zählwert des ursprünglichen zugegebenen internen Standards

Bg = Zählwert des Geräte-Leerwerts

Vt = Gesamtvolumen der Probe (1000 λ)

Va = Volumen des zur Zählung verwendeten Aliquots (100 λ)

Bei entsprechenden Anordnungen der Proben im Szintillationszähler und Angabe des Meßwertes über einen Lochstreifen konnte die Berechnung mit der oben erwähnten Formel über einen Computer (Wang 700 c) berechnet werden. Die bei der gemeinsamen Bestimmung von Androstendion und Testosteron in den 0,9 ml Methanol erhaltenen Meßwerte wurden mit Hilfe dieses Wiederfindungsfaktors auf die ursprünglich in den Proben vorhandenen Androstendion- bzw. Testosteron-Mengen umgerechnet.

2.2.6. Überprüfung der Zuverlässigkeitskriterien

Bei Erarbeitung der Zuverlässigkeitskriterien wurde fast ausschließlich mit Plasmaproben vom Rind gearbeitet; Rehplasma war nicht in ausreichenden Mengen vorhanden, um die entsprechenden Untersuchungen durchzuführen.

2.2.6.1. Spezifität

Bestimmung von Testosteron: Bei der Bestimmung von Testosteron nach einfacher Plasmaextraktion hängt die Spezifität des angewandten Radioimmunotests im wesentlichen von den Bindungseigenschaften des verwendeten Antiserums ab.

Das verwendete Antiserum für die Testosteronbestimmung zeigte lediglich mit 5 α -DHT eine nennenswerte Kreuzreaktion (s. Kapitel 2.2.3.2.1.). Zumindest für den Menschen ist bekannt, daß 5 α -DHT - das ja ein Umwandlungsprodukt des Testosterons in den Zellen der Erfolgsorgane ist (s. Kapitel 1.1.3.) - im Blutplasma nur in niedrigen Konzentrationen auftritt und deshalb beim Mann, bei Anwendung einer analogen Methode, die Bestimmung von Testosteron im peripheren Plasma nicht beeinflusst wird (Lox et al. 1974). Im Rahmen vorliegender Untersuchungen wurde daher überprüft, inwieweit durch möglicherweise im Plasma von Bullen vorhandenes 5 α -DHT die Testosteronbestimmung beeinflusst wird. Nachdem es bei Durchführung der im Kapitel 2.2.4.2. beschriebenen chromatographischen Trennung zwischen Androstendion und Testosteron auch zu einer teilweisen Trennung zwischen Testosteron und 5 α -DHT kommt (Murphy 1971), wurde in einer Serie von insgesamt 24 Proben Testosteron einmal nach Durchführung der Säulenchromatographie und einmal nach einfacher Plasmaextraktion (s. Kapitel 2.4.1.) gemessen.

Wie die in Tabelle 2 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen, ergibt sich mit $P \sim 0,30$ kein Unterschied zwischen den beiden Verfahren. Um die Spezifität weiter abzusichern, wurde in einer weiteren Untersuchungsreihe an insgesamt 8 Proben 5 α -DHT von Testosteron zunächst dünn-schicht-chromatographisch (Kieselgel; Benzol/Essigsäureäthyl-ester = 4 : 2) vollständig abgetrennt; nach Eluierung der Testosteron-Zone und Durchführung der Säulenchromatographie auf Sephadex LH-20 wurden dann die nach der radioimmunologischen Messung erhaltenen Meßwerte denen der Direktbestimmung nach einer einfachen Plasmaextraktion gegenübergestellt. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 dargestellt. Auch in diesem Versuch zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($P \sim 0,40$) zwischen den beiden Verfahren. Soweit Differenzen zwischen den Meßwerten bestehen, sind diese gleichmäßig nach plus und negativ verteilt. Die durchgeführten Untersuchungen zur Überprüfung der Beeinflussung des RIT durch 5 α -DHT haben nicht nur die hohe Spezifität der Bestimmung von Testosteron nach einfacher Plasmaextraktion aufgezeigt, sondern auch die Spezifität der Testosteronbestimmung nach Abtrennung von Androstendion durch eine Säulenchromatographie unterstrichen.

Eine weitere Bestätigung der Spezifität ist auch die Tatsache, daß in Gegenwart von Plasmaextrakten entwickelte Standardkurven sich nicht von regulären Standardkurven unterscheiden (s. Abbildung 15). Die Differenz zwischen den beiden Kurven ergibt über den gesamten Bereich einen konstanten Meßwert. Ebenso als ein Hinweis für die Spezifität kann angegeben werden, daß sowohl mit, als auch ohne Säulenchromatographie die Wiederauffindung abgestufter Testosteron-Zusätze zu Plasma linear war, d.h. es ergaben sich Regressionskoeffizienten von 1.10 bzw. 0.99 (s. Tabelle 4, Kapitel 2.2.6.3.). Diese Tatsache, sowie der oben zitierte Befund bezüglich der Entwicklung von Standardkurven mit und ohne Extrakt, lassen die Aussage zu, daß beim Ablauf des RIT keine Störfaktoren in Erscheinung getreten sind (s. auch bei Heinritzi 1974).

Tabelle 2

Vergleichende radioimmunologische Bestimmung
von Testosteron im Blutplasma mit und ohne
Säulenchromatographie (SC)

Probe Nr.	Testosteronwerte (ng/ml Plasma)	
	mit SC	ohne SC
1	0.61	0.58
2	0.63	0.51
3	0.66	0.58
4	0.75	0.65
5	1.35	1.75
6	1.6	1.55
7	1.6	1.58
8	1.85	1.58
9	2.25	1.93
10	2.4	1.8
11	2.4	2.3
12	3.4	3.4
13	3.52	3.9
14	4.65	5.15
15	4.7	5.8
16	6.3	6.3
17	6.9	7.3
18	8.0	7.7
19	8.0	8.5
20	8.0	8.1
21	8.1	8.2
23	8.4	9.0
24	10.3	10.5

Tabelle 3

Vergleichende radioimmunologische Bestimmung von
Testosteron im Bullenplasma nach dünnschicht-
und säulenchromatographischer Vorreinigung bzw.
einfacher Plasmaextraktion

Probe Nr.	Testosteronwerte (ng/ml Plasma)	
	mit DC und SC	ohne Chromatographie
1	3.62	3.6
2	4.52	3.7
3	4.04	3.9
4	2.26	3.2
5	2.44	3.9
6	2.34	3.2
7	3.96	3.7
8	2.75	3.0

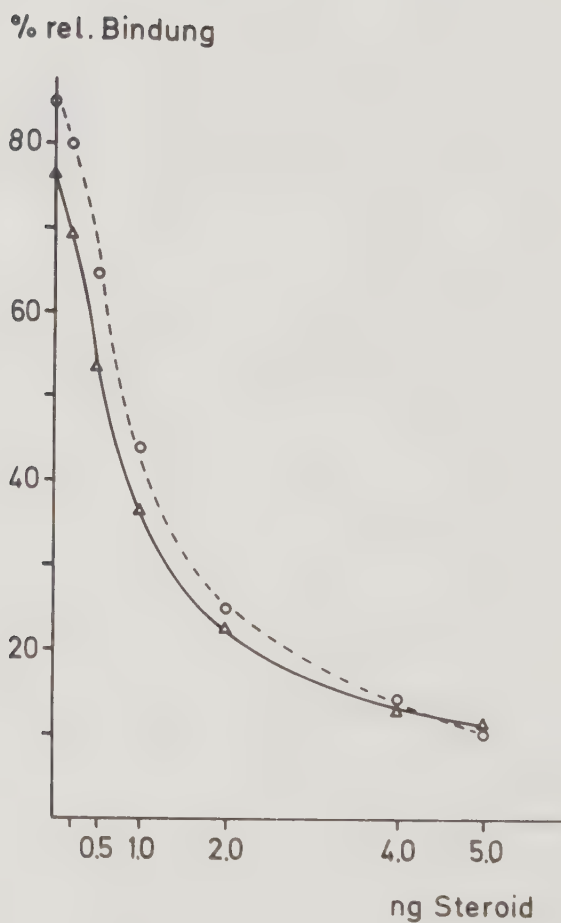


Abb. 15 Testosteron Standardkurve mit (———)
und ohne (-----) Plasmaextrakte

Bestimmung von Androstendion: Wie aus der Überprüfung auf Kreuzreaktivität zu ersehen ist (s. Kapitel 2.2.3.2.2.), wies das gegen Androstendion verwendete Antiserum nur mit Testosteron eine nennenswerte Kreuzreaktion auf. Durch eine sehr klare Trennung von Androstendion mittels einer Sephadex LH-20 Säulenchromatographie konnte dieser die Spezifität der Androstendionbestimmung negativ beeinflussende Faktor ausgeschaltet werden. Eine Bestätigung der Spezifität des Verfahrens ist die ebenfalls lineare Wiederauf-
findung von zu Plasma zugesetztem Androstendion; der Regressionskoeffizient (b) lag bei $b = 0,93$ (s. Tabelle 4, Kapitel 2.2.6.3.).

2.2.6.2. Empfindlichkeit

Bei der Bestimmung von Testosteron als auch von Androstendion lag, bei einem Reagentienleerwert von durchschnittlich $0,020 (\pm 0,030)$ ng ($n = 77$) Hormonäquivalenten, die untere Grenze der Empfindlichkeit bei ca. $0,050$ ng.

2.2.6.3. Genauigkeit

Die Genauigkeit der Methoden zur gemeinsamen Bestimmung von Androstendion und Testosteron und Bestimmung von Testosteron nach einfacher Ätherextraktion wurde durch die Wiederauffindung von nicht markiertem Androstendion und Testosteron bzw. Testosteron allein, das $0,5$ ml Kälberplasma zugesetzt worden war, überprüft. Dieses Kälberplasma war zuvor zur Entfernung der endogenen Steroide mit Holzkohle behandelt worden.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt. Wie aus der Tabelle zu erkennen ist, wurde der höchste Variationskoeffizient mit ca. 21 % für die Wiederfindung der kleinsten Testosteronmenge (0,2 ng) ermittelt; beurteilt am absoluten Meßwert von 0,2 ng muß dieser Variationskoeffizient als zufriedenstellend bezeichnet werden. Für die Wiederfindung der übrigen Zusätze (0,5 - 4,0 ng) ergaben sich Variationskoeffizienten zwischen 2,3 und 18,7 %, unabhängig von der Methode, dem gemessenen Hormon und den Mengen zugesetzten Hormons.

Die gute Genauigkeit bei der Bestimmung von Testosteron nach einfacher Ätherextraktion zeigte sich auch daran, daß bei der Extraktion unterschiedlicher Mengen Bullenplasmas (0,2 - 1,0 ml), bezogen auf ng Testosteron/ml Plasma, in insgesamt 15 Messungen ein Mittelwert von 4,0 ($\pm$ 0,51) ng/ml bei einem Variationskoeffizienten von $V = 12,8$ % erreicht wurde.

2.2.6.4. Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Androstendion- und Testosteronbestimmungsmethoden wurde durch die wiederholte Bestimmung dieser Hormone in insgesamt 6 verschiedenen Plasma-Sammelproben über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr überprüft. Aufgrund der hohen Androstendionkonzentrationen, die bei der Frau während der ovulatorischen Phase festgestellt worden sind (Abraham et al. 1969, Judd & Yen 1973, Lobotsky & Lloyd 1973, Baird & Burger 1973), wurde für die Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Androstendionbestimmung Frauenplasma verwendet. Das Ergebnis, das insgesamt als gut bezeichnet werden kann, ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 4

Wiederfindung (Waf.) von nicht markiertem Androstendion und Testosteron mit Säulenchromatographie (SC) und Testosteron ohne Chromatographie

RIT	Steroid	Zusatz ng	Waf. ng	S	VK %	b	n
mit SC	Androstendion	0.5	0.49	0.10	2.3	0.93	16
		1.0	0.92	0.12	13.8		6
		2.0	1.86	0.17	9.3		6
	Testosteron	0.5	0.56	0.08	14.6	1.10	7
		1.0	1.17	0.21	18.7		6
		2.0	2.07	0.09	4.5		4
Einfache Äther- Extraktion	Testosteron	0.2	0.23	0.04	21.1	0.99	12
		0.5	0.54	0.05	9.9		16
		1.0	0.99	0.06	6.9		16
		2.0	1.93	0.25	13.1		21
		4.0	4.03	0.18	4.5		10

Tabelle 5

Überprüfung der Reproduzierbarkeit

RIT	gemessenes Steroid	Sammelprobe	ng/ml Plasma $\bar{x}$	S	VK %	n
mit SC	Androstendion	1 (Frauenplasma)	10.35	0.63	6.1	4
	Testosteron	2 (Bullenplasma)	3.4	0.25	7.4	5
mit einfacher Atherex- traktion	Testosteron	3 (Bullenplasma)	2.99	0.16	5.6	11
		4 (Bullenplasma)	6.22	0.75	12.0	30
		5 (Kuhplasma)	0.24	0.04	18.4	8
		6 (Kuhplasma)	0.72	0.09	12.6	26

Für die Reproduzierbarkeit bei der kleinsten gemessenen Testosteronkonzentration (Sammelprobe 5, Kuhplasma) wurde ein Variationskoeffizient von nur 18.4 % errechnet.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die an die Methode gestellten Forderungen bezüglich der Zuverlässigkeit im wesentlichen erfüllt wurden.

2.3. Tiermaterial und Probennahmen

2.3.1. Versuche beim Rind

Sämtliche Versuche am Rind wurden auf der Versuchsstation Veitshof (Weihestephan) durchgeführt. Es handelte sich um männliche Rinder der Braunviehrasse, die unter identischen Aufzuchtbedingungen standen.

Im Rahmen des Pubertätsversuches wurden von 4 Bullen ("Kabine", "Kaliro", "Lado" und "Nydo") Plasmaproben von der ersten Lebenswoche bis einschließlich zum 18. Lebensmonat gewonnen. Die Blutentnahme erfolgte stets um die gleiche Tageszeit (zwischen 8:00 und 9:00 Uhr), 3 x pro Woche durch Punktion der Vena jugularis.

Für die Versuche zur Kontrolle episodischer Testosteronschwankungen wurde, unter Ruhigstellung des Tieres (Rompun 0,25 ml/100 kg i.m. Bayer Leverkusen), ein Dauerkatheter (Clear Vinyl Tube i.D. 2 mm, o.D. 3 mm, Fa. Dural Plastics Ltd.) mit Hilfe einer großen Kanüle in die Vena jugularis eingeführt. Der Katheter wurde außen an die Haut bis zum dorsalen Teil des Halses geführt und mit Tesaband (5 cm breit) angeklebt. Dies geschah einen Tag vor dem eigentlichen Versuchsbeginn. Um eine Verstopfung des Katheters während der Periode der Blutentnahme zu verhindern, wurde nach jeder Blutentnahme mit einer Heparinlösung (Liquemin 2500 I.E./ml Fa. Roche) 1 : 5, mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, durchgespült.

Die Blutproben selbst (je 10 ml) wurden in heparinisierten Plastikgefäßen (Fa. W. Sarstedt) gesammelt, sofort abzentrifugiert und das Plasma bei -18°C eingefroren.

2.3.2. Versuche beim Rehbock⁺

Die zur Verfügung stehenden 8 Rehböcke (*Capreolus capreolus*) wurden mit je einem weiblichen Tier als Einzelpaare in Kleingehegen in einem Wildgatter (Jachenau/Oberbayern) gehalten. Diese Kleingehege hatten eine Grundfläche von ca. 16 m^2 ; bei etwa 1,5 Meter Höhe war den Tieren die Sicht nach außen verwehrt; fast 2,5 Meter hohe Maschendrahtzäune verhinderten das Überspringen der Wände. Eine geschlossene Schutzhütte (ca. $1,5 \times 1,5\text{ m}$) in jedem Kleingehege konnte von den Tieren beliebig oft aufgesucht werden und war von außen für das Pflegepersonal zugänglich. Die Tiere waren als Kitze eingefangen worden. Die für die Fragestellung wichtigen Verhaltensweisen waren von denen, wie sie bei freilebenden Rehen beobachtet wurden, nicht zu unterscheiden (Barth 1973).

Bei der Blutentnahme wurden die Rehböcke seitlich liegend von zwei Hilfskräften festgehalten; dabei wurde der Kopf der Tiere nach vorne gedrückt, wodurch der Hals gespannt wurde und die nachfolgende Blutentnahme durch Punktion der Vena jugularis möglich war. Das Blut (10 ml) wurde in heparinisierten Plastikgefäßen aufgefangen. Die Proben wurden sofort gründlich gemischt und zum Transport in Eisbehälter gestellt. Nach dem Transport (ca. 2 Stunden) wurde das Plasma abzentrifugiert und bei -18°C tiefgefroren.

⁺) Die Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Dietrich Barth (Therapogen Werk, Sharp & Dohme GmbH., München) durchgeführt.

2.4. Statistische Verfahren

Für die Berechnung der Mittelwerte, Standardabweichungen, Variationskoeffizienten, t-Werte und Regressionskoeffizienten wurde ein Olivetti Tischcomputer "programma 101" mit vorgegebenen Programmen verwendet. Die Errechnung von Paardifferenzen erfolgte nach Snedecor (1956). Der t-Test wurde mit Hilfe der wissenschaftlichen Tabellen Geigy (1968) ausgewertet.

3. E r g e b n i s s e

Bei Anwendung der im methodischen Teil der Arbeit beschriebenen radioimmunologischen Meßverfahren, wurden - je nach Versuch - Testosteron und/oder Androstendion in den gesammelten Plasmaproben (s. Kapitel 2.3.) bestimmt. Um die Ergebnisse möglichst klar darzustellen, sind sie in Form von Abbildungen gezeigt, denen jeweils die Mittelwerte der Doppelbestimmungen zugrunde liegen. Die entsprechenden Einzelwerte sind im Anhang in Form von Tabellen angegeben.

3.1. Untersuchungen beim Rind

3.1.1. Verlauf der Testosteronkonzentrationen im Plasma von 4 Bullen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche

Die Untersuchungen wurden bei den Bullen Nydo, Kabine, Lado und Kaliro durchgeführt.

Das Ergebnis der Testosteronbestimmungen beim Bullen Nydo ist in Abbildung 16 dargestellt. Die Werte liegen zunächst unter Konzentrationen von 1 ng/ml Plasma von der Geburt bis zur 23. Lebenswoche. Danach zeigt sich eine Phase ansteigender Testosteronwerte bis zur 37. Lebenswoche, in der erste Höchstwerte um ca. 7 ng/ml Plasma erreicht werden. Die Konzentrationen schwanken dann, ohne irgendwelche Tendenzen erkennen zu lassen, mehr oder weniger unregelmäßig zwischen 0.2 und 10 ng/ml Plasma bis zur 60. Lebenswoche. Ab der 61. Lebenswoche ergaben sich größere Spannweiten in den Schwankungen der Testosteronkonzentrationen zwischen 0.5 und 21.3 ng/ml Plasma, ohne jedoch signifikante Veränderungen im Sekretionsrhythmus aufzuzeigen.

Beim Bullen Kabine (s. Abbildung 16) blieben die Testosteronwerte bis zur 20. Lebenswoche unter 1 ng/ml Plasma. Zwischen der 21. und 34. Lebenswoche zeigt sich - trotz starker Schwankungen der Einzelwerte - ein Anstieg der Testosteronwerte von ca. 1.5 ng/ml Plasma auf Konzentrationen bis zu ca. 7 ng/ml. Ein relativ konstantes Bild, soweit es die Schwankungen und die absolute Höhe der Testosteronwerte betrifft, zeigt sich dann bis zur 41. Lebenswoche. Von diesem Zeitpunkt an ist ein erneuter Anstieg der gemessenen Maximalwerte zu beobachten, die in der 57. Lebenswoche bei mehr als 16 ng/ml Plasma liegen. Während bis zur 61. Lebenswoche noch Niedrigwerte unter 2 ng/ml Plasma gemessen werden konnten, ist im letzten Abschnitt der Untersuchungen (ab der 66. Lebenswoche) eine deutliche Tendenz zur Erhöhung dieser Niedrigwerte zu erkennen.

Beim Bullen Lado (s. Abbildung 17) bleiben die Testosteronkonzentrationen bis zur 17. Lebenswoche unter 1 ng/ml Plasma. Danach zeigt sich - wie schon bei den anderen beiden Bullen zu beobachten war - ein Bild stark schwankender Testosteronwerte. Insgesamt kann von einer Phase ansteigender Werte zwischen der 20. und 28. Lebenswoche gesprochen werden. Nach diesem ersten Gipfel in der Testosteronsekretion nehmen Höhe und Anzahl der erfaßten Testosteron-Peaks bis zur 42. Lebenswoche wieder etwas ab. Unter Beibehaltung der gemessenen Niedrigwerte (weniger als 2 ng/ml Plasma) folgt dann bis zur ca. 55. Lebenswoche eine 3. Phase, in der die Anzahl und Höhe der gemessenen Gipfelwerte (bis zu 10 ng/ml Plasma) wieder zunimmt. In der restlichen Untersuchungsphase zeigen die gemessenen Maximalwerte keine signifikanten Veränderungen, während die Häufigkeit der unter 2 ng/ml Plasma liegenden Testosteronwerte deutlich abgenommen hat.

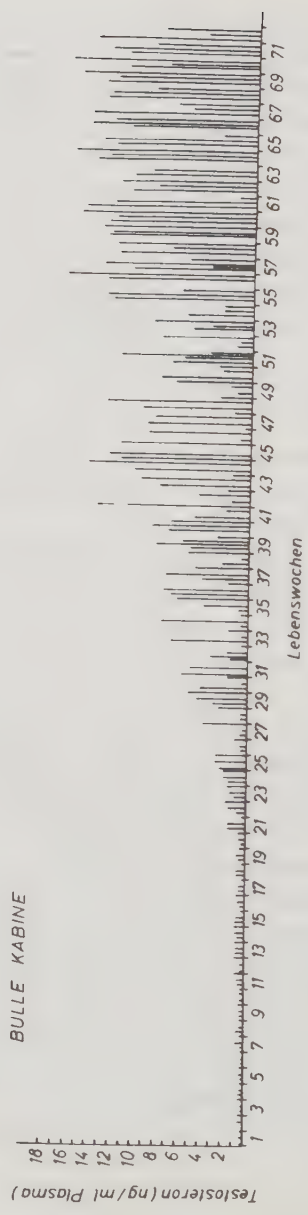


Abb. 16 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche

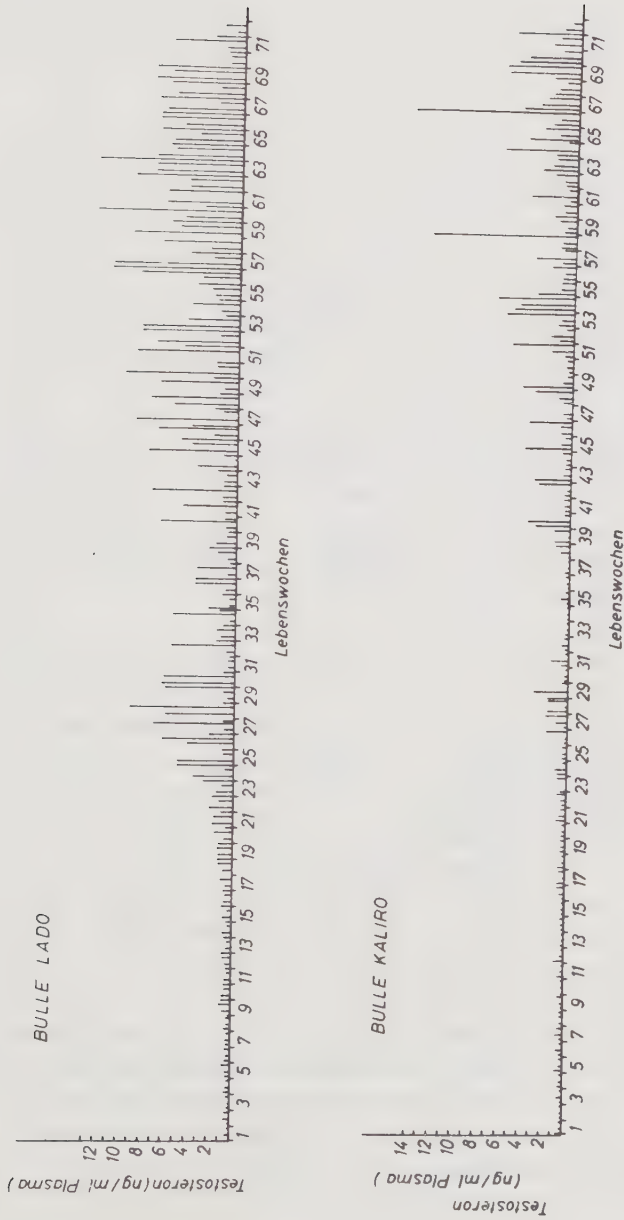


Abb. 17 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche

Beim Bullen Kaliro (s. Abbildung 17) unterscheidet sich der Verlauf der Testosteronwerte während des gesamten Untersuchungszeitraums wesentlich von dem der 3 anderen untersuchten Bullen. Testosteronkonzentrationen über 1 ng/ml Plasma waren hier erst zwischen der 26. und 29. Lebenswoche festzustellen und dann wieder ab der 38. Lebenswoche. Auch dann werden nur sehr sporadisch Konzentrationen von mehr als 3 ng/ml Plasma gemessen. Erst ab der 54. Lebenswoche zeichnet sich aufgrund der zunehmenden Höhe der Testosterongipfelwerte (max. 14.5 ng/ml Plasma) sowie deren zunehmender Frequenz eine deutlich erhöhte inkretorische Leistung der Hoden ab, die aber immer noch signifikant niedriger ist als bei den anderen 3 erfaßten Tieren.

In Abbildung 18 sind die bei den 4 untersuchten Bullen erhaltenen Ergebnisse zusammengefaßt. Bei Darstellung der Werte wurden die jeweils in 3 Wochen gemessenen Einzelwerte zu einem Mittelwert zusammengefaßt, die senkrechten Linien zeigen die errechnete Standardabweichung ($S_{\pm}$) an.

Deutlicher als bei Darstellung der Einzelwerte geht aus dieser Zusammenfassung hervor, daß bei den Bullen Nydo, Lado und Kabine der Anstieg der Testosteronkonzentrationen im erfaßten Zeitraum in 2 Phasen abzulaufen scheint; als Durchschnittswerte wurden für die erste Phase die Zeitspanne zwischen der 25. und 38. Lebenswoche und für die zweite Phase die Zeitspanne zwischen der 52. und 64. Lebenswoche errechnet. Eine ähnliche Beobachtung konnte beim Bullen Kaliro nicht gemacht werden. Ein anhaltender, jedoch geringgradiger Testosteronanstieg im Plasma zeigt sich hier erst ab der 39. Lebenswoche. Die für alle 4 Tiere errechneten starken Standardabweichungen der Mittelwerte - insbesondere dann, wenn Werte von 2 ng/ml Plasma überschritten wurden - sind auf die gemessenen kurzfristigen Schwankungen der Testosteronspiegel im peripheren Blut zurückzuführen.

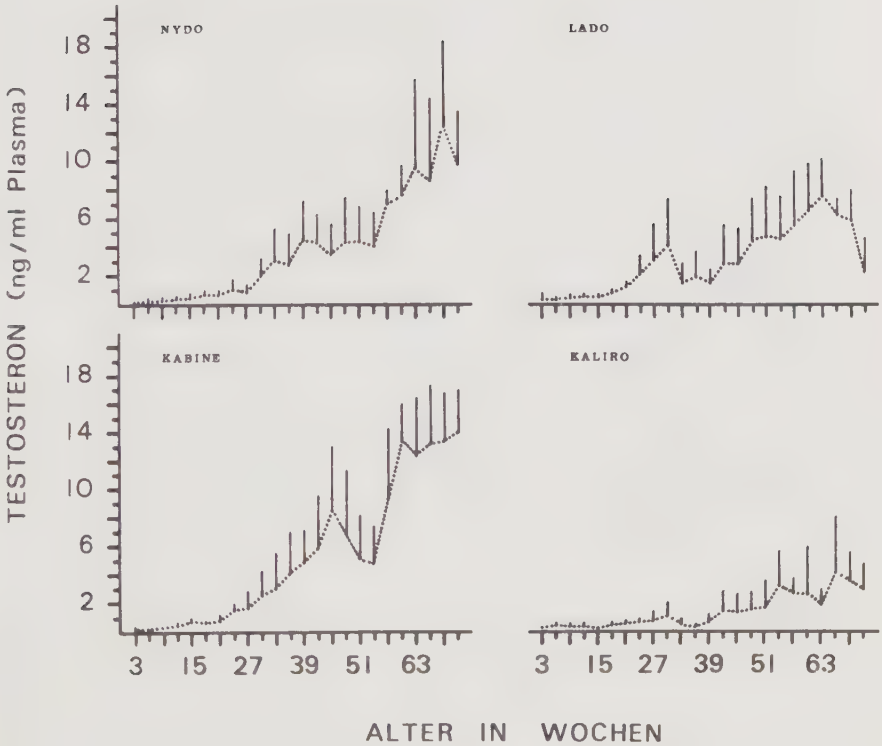


Abb. 18 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche
Mittelwerte von je 3 Wochen ($S_{\pm}$)

3.1.2. Verlauf der Androstendionkonzentrationen im Plasma von 4 Bullen von der Geburt bis zum 12. Lebensmonat

Diese Untersuchungen wurden stichprobenartig bei den bereits erwähnten 4 Bullen (Kapitel 3.1.1.) durchgeführt. Bei den Bullen Kaliro, Lado und Nydo wurden die Androstendionkonzentrationen im 1., 2., 5., 6. sowie 9. bis 12. Lebensmonat in ein bis zwei Proben pro Monat gemessen. Beim Bullen Kabine wurden mindestens 2 bis zu teilweise 13 Stichproben pro Monat in den ersten 12 Lebensmonaten untersucht. Das zusammenfassende Ergebnis ist in Tabelle 6 dargestellt (Einzelwerte s. Tabelle X). Es zeigte sich zunächst, daß bei allen Tieren auffallend niedrige Androstendionkonzentrationen gemessen wurden, die stets unter 1 ng/ml Plasma lagen. Die Werte schwankten zwischen "nicht mehr meßbar" und maximal 0.75 ng/ml Plasma (Bulle Lado). Irgendwelche Zuordnungen bezüglich Höhe und Konzentrationsveränderungen der Androstendionwerte zum Altersabschnitt oder zu Veränderungen in den Testosteronwerten konnten nicht getroffen werden.

Tabelle 6

Durchschnittswerte der Androstendionkonzentrationen
im peripheren Blutplasma von 4 Bullen von der Geburt
bis zum 12. Lebensmonat

Lebens- monat	ng Androstendion/ml Plasma							
	Kabine		Kaliro		Lado		Nydo	
	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$
1	12	0.04	2	0.19	3	0.58	2	0.42
2	4	0.01	1	0.00			1	0.00
3	2	0.38						
4	2	0.54						
5	2	0.38	1	0.14	1	0.62	2	0.00
6	2	0.20	1	0.73	1	0.67		
7	6	0.10						
8	13	0.13						
9	12	0.17	1	0.09	1	0.57	2	0.30
10	4	0.19	1	0.07	1	0.61	1	0.16
11	3	0.09	2	0.00	2	0.69	1	0.17
12	2	0.00	1	0.00	1	0.64	1	0.00

3.1.3. Episodische Schwankungen der Testosteron- konzentrationen im peripheren Blutplasma

Diese Untersuchungen wurden zunächst an 6 Tieren mit häufiger Blutentnahme durchgeführt, die in unterschiedlichem Lebensalter herangezogen wurden. Es lassen sich dabei nach dem Alter Gruppen von jeweils 2 Tieren für die Altersstufen 1, 2, 5 und 10 Monate (4, 8, 20 bzw. 40 Wochen) zuordnen (s. Kapitel 2.3.1.). Der genaue Versuchsplan ist in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7

Versuchsplan für die Untersuchungen der episodischen
Testosteronschwankungen im Plasma

Tier- name	Alter in Monate	Probennahme- freq. in Min.	Versuchs- dauer in Std.	Uhrzeit von bis	
Kaiser	1	15	8	8:30	16:20
Kasper	1	15	8	8:00	16:00
Kaiser	2	15	8	6:00	13:45
Zar	2	15	8	7:30	15:30
Kaiser	5	15	8	8:00	16:00
Gerd	5	15	8	8:15	16:15
Gerd	10	15	8	7:30	15:30
Gilch	10	15	8	7:30	15:30
Gilch	14,5	15	48	9:00	9:00
Kaliro	34	15	32	7:30	15:30

3.1.3.1. Bei 4 und 8 Wochen alten Kälbern

Wie aus Abbildung 19 zu erkennen ist, sind bei diesen Kälbern während der ganzen Untersuchungsperiode keine nennenswerten Veränderungen in den Testosteronkonzentrationen zu beobachten. Sowohl bei den 4 Wochen alten Kälbern "Kaiser" und "Kasper", als auch bei den 8 Wochen alten Kälbern "Kaiser" und "Zar" liegen die Werte konstant sehr niedrig zwischen nicht mehr meßbaren Werten und 0,5 ng/ml Plasma.

3.1.3.2. Bei 20 und 40 Wochen alten männlichen Rindern

Zwischen den beiden 20 Wochen alten Versuchskälbern zeigen sich große Unterschiede in den Testosteronwerten, wie aus Abbildung 20 hervorgeht. Während beim Kalb "Kaiser" die Werte relativ kontinuierlich verlaufen und die Konzentrationen zwischen 0,1 und 0,6 ng/ml Plasma liegen - ähnlich wie bei den 4 und 8 Wochen alten Tieren -, erreichen die Testosteronwerte beim Kalb "Gerd" Konzentrationen bis ca. 6 ng/ml Plasma. Bei diesem Tier wird - wohl aufgrund der kurzfristigen Blutentnahmen - ein wellenförmiger Verlauf der Testosteronkonzentrationen während des Untersuchungszeitraumes deutlich. Ein erster Gipfelwert mit 5,7 ng/ml Plasma wurde um 9 Uhr früh gemessen. Danach ist bis um ca. 11 Uhr ein kontinuierlicher Abfall der Werte auf Konzentrationen unter 1 ng/ml Plasma festzustellen, die dann etwa 2,5 Stunden auf diesem Basisniveau verbleiben. Daraufaufgehend zeigt sich ein neuer Anstieg und die Werte erreichen eine maximale Konzentration von 6,8 ng/ml Plasma um 15 Uhr. Danach ist wieder ein allmählicher Abfall der Konzentration festzustellen.

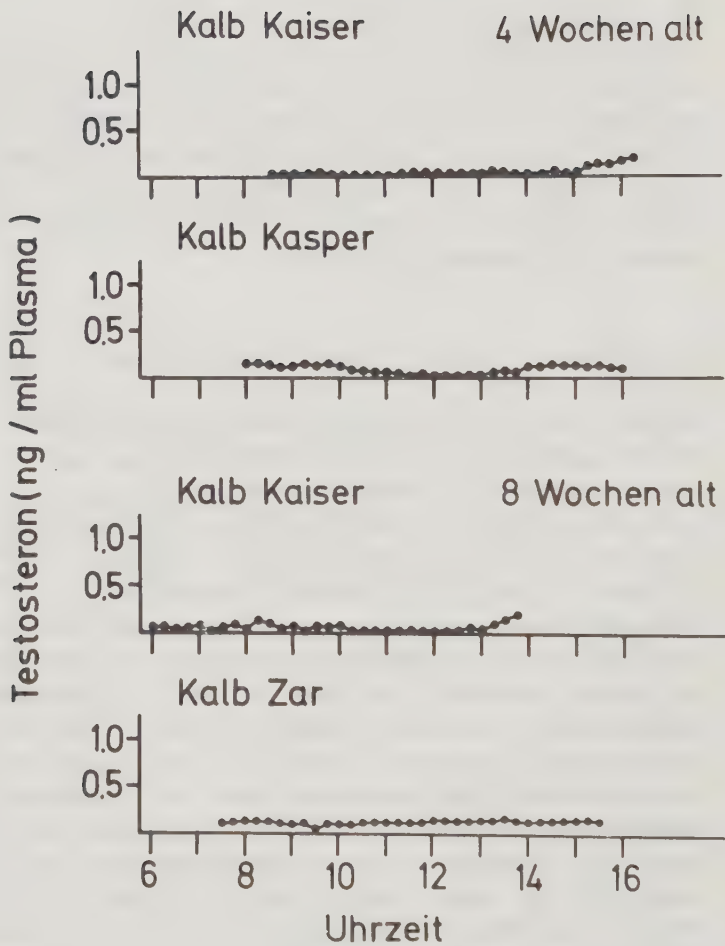
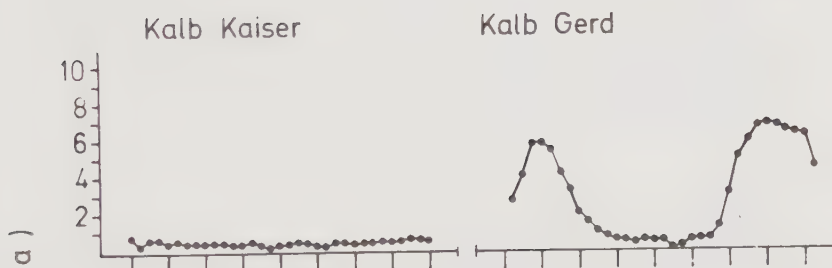


Abb. 19 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma über eine Zeitperiode von 8 Stunden. Abstand zwischen 2 Werten = 15 Minuten

20 Wochen alt



40 Wochen alt

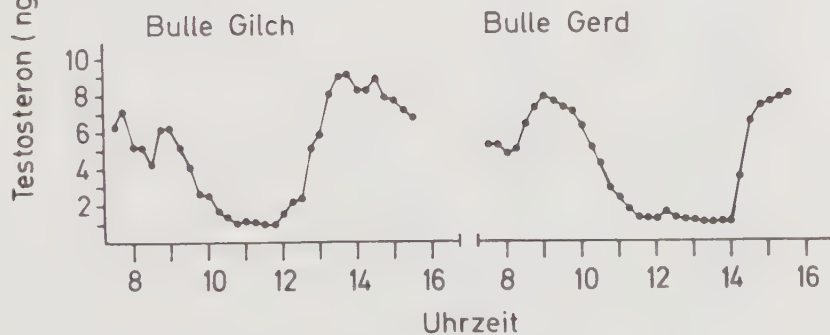


Abb. 20 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma über eine Zeitperiode von 8 Stunden. Abstand zwischen 2 Werten = 15 Minuten

Einen fast parallelen Verlauf zeigen die Testosteronwerte beim gleichen Tier 20 Wochen später. Einen ähnlichen Verlauf zeigen auch die beim Bullen Gilch (40 Wochen alt) im gleichen Zeitraum gemessenen Testosteronwerte. Auch bei diesem Tier ist eine Phase höherer Testosteronkonzentrationen zwischen 8 Uhr und 9 Uhr und 13 Uhr und 15 Uhr bzw. eine Phase niedriger Testosteronwerte zwischen 10 Uhr und 12 Uhr festzustellen. Allerdings ergibt sich bei diesem Tier nicht der gleiche "glatte" Kurvenverlauf wie beim Bullen Gerd.

3.1.3.3. Bei einem 14 Monate alten Bullen

Bei diesem Bullen (Bulle Gilch) wurden die Testosteronkonzentrationen im peripheren Plasma alle 15 Minuten über eine Zeitperiode von 48 Stunden untersucht. Es zeigen sich zunächst als herausragender Befund starke Schwankungen in den Testosteronwerten während des Tagesverlaufes (s. Abbildung 21). Eine regelmäßige Verteilung der Schwankungen wurde jedoch bei diesem Tier nicht beobachtet. Im allgemeinen schwanken die Konzentrationen zwischen 2,5 und 18 ng/ml Plasma. Basiswerte von ca. 1,5 ng wurden in insgesamt 4 Perioden mit einer Dauer von etwa 3 (11:45 - 14:30), 4 (5:00 - 9:00), 2 (22:00 - 23:45) und 4 (4:00 - 8:00) Stunden beobachtet. Eine Korrelation zwischen den Testosteronkonzentrationen und der Tageszeit oder anderen Faktoren, wie z.B. Fütterung, Schlaf und Aggressivität, konnte nicht festgestellt werden.

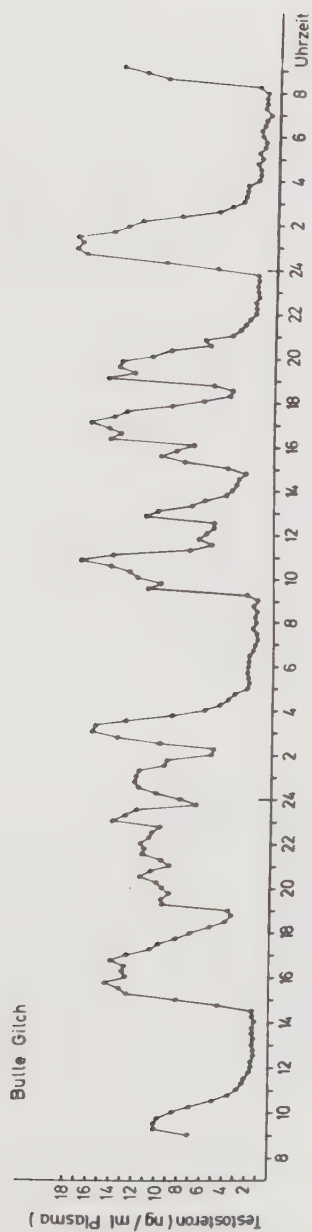


Abb. 21 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma über eine Zeitspanne von 48 Stunden. Abstand zwischen 2 Werten = 15 Minuten

3.1.3.4. Bei einem 34 Monate alten Bullen

In diesem Versuch wurden von dem Bullen Kaliro Blutproben alle 15 Minuten über eine Zeitperiode von 32 Stunden gewonnen und die Testosteronkonzentration gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 22 dargestellt. Am ersten Versuchstag wurden Maximalwerte zwischen 7 und 7,5 ng/ml Plasma um 9:45 Uhr, 16:30 Uhr und 22:15 Uhr beobachtet und Basiswerte um ca. 1,5 ng/ml Plasma zwischen 11 und 15 Uhr sowie zwischen 19 und 20 Uhr festgestellt. Am darauffolgenden Tag blieben die Testosteronkonzentrationen im allgemeinen bei 1,5 - 2 ng/ml Plasma. Es wurden lediglich zwei Gipfel von 7,3 und 7,4 ng/ml Plasma um 5:15 Uhr bzw. 6:15 Uhr und ein erneuter Anstieg um 15 Uhr beobachtet. Während die am ersten Untersuchungstag gemachten Beobachtungen zunächst darauf hindeuten, daß die gemessenen Schwankungen einen relativ regelmäßigen zyklischen Verlauf haben, sprechen die Befunde in der zweiten Hälfte der Untersuchungsperiode gegen diese Aussage.

3.2. Untersuchungen beim Rehbock

Die ersten Blutproben wurden am 22. Februar 1973, als die Tiere ca. 9 Monate alt waren (genaues Alter s. Tabelle 8), gewonnen. Die weiteren Blutentnahmen erfolgten grundsätzlich alle 21 Tage zwischen 7:00 und 11:00 Uhr bis zum 10. September 1974. Am 2. April wurden auch vom Rehbock Nr. 50 Blutproben im Abstand von einer Stunde von 6:00 bis 18:00 Uhr genommen.

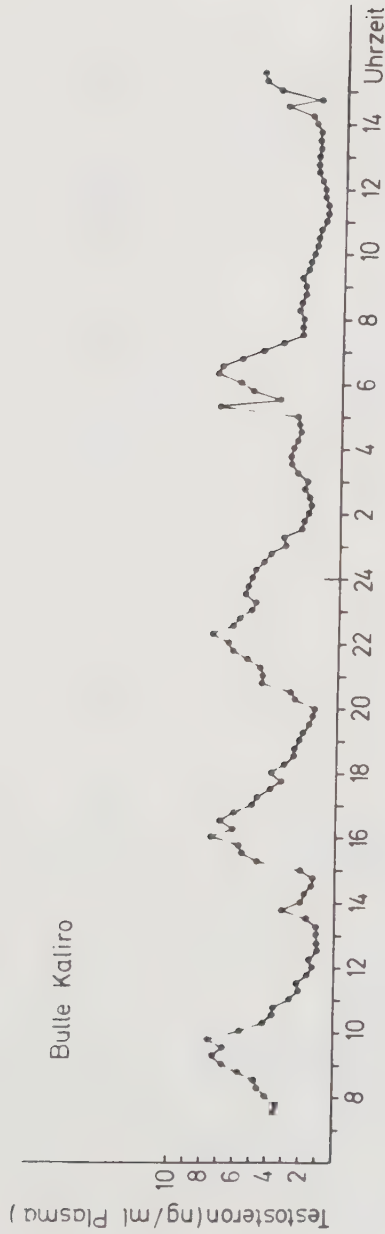


Abb. 22 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma über eine Zeitspanne von 32 Stunden. Abstand zwischen 2 Werten = 15 Minuten

Tabelle 8

Geburtsdaten der Versuchsrehböcke

Rehbock Nr.	Geboren am:
16	8.5.72
23	16.5.72
26	12.5.72
50	5.5.72
83	19.5.72
90	18.5.72
91	1.6.72
92	1.6.72

3.2.1. Testosteronkonzentrationen im peripheren
Blutplasma im Verlauf des Jahres
bei Jährlingen

Die Untersuchungen wurden bei 8 Tieren vom 9. Lebensmonat bis zum 28. Lebensmonat durchgeführt (s. Kapitel 2.3.2.). Entsprechend der Jagdterminologie würden diese Tiere als "Jährlinge" eingestuft werden.

Da der Rhythmus der Testosteronsekretion im Verlauf des Untersuchungszeitraumes bei allen untersuchten Tieren die gleiche Tendenz aufwies, wird mit Abbildung 23 zunächst ein zusammenfassendes Ergebnis der Testosteronbestimmungen dargestellt. Die bei den Böcken an jeweils einem Tag gemessenen Konzentrationen wurden zu einem Mittelwert ($S_{\pm}$) zusammengefaßt. Für die ersten beiden Untersuchungsmonate (Februar - März 1973) ergaben sich gleich hohe Durchschnittswerte von 0,85 ($\pm$ 0,84) bzw. 0,85 ($\pm$ 0,51) ng/ml Plasma.

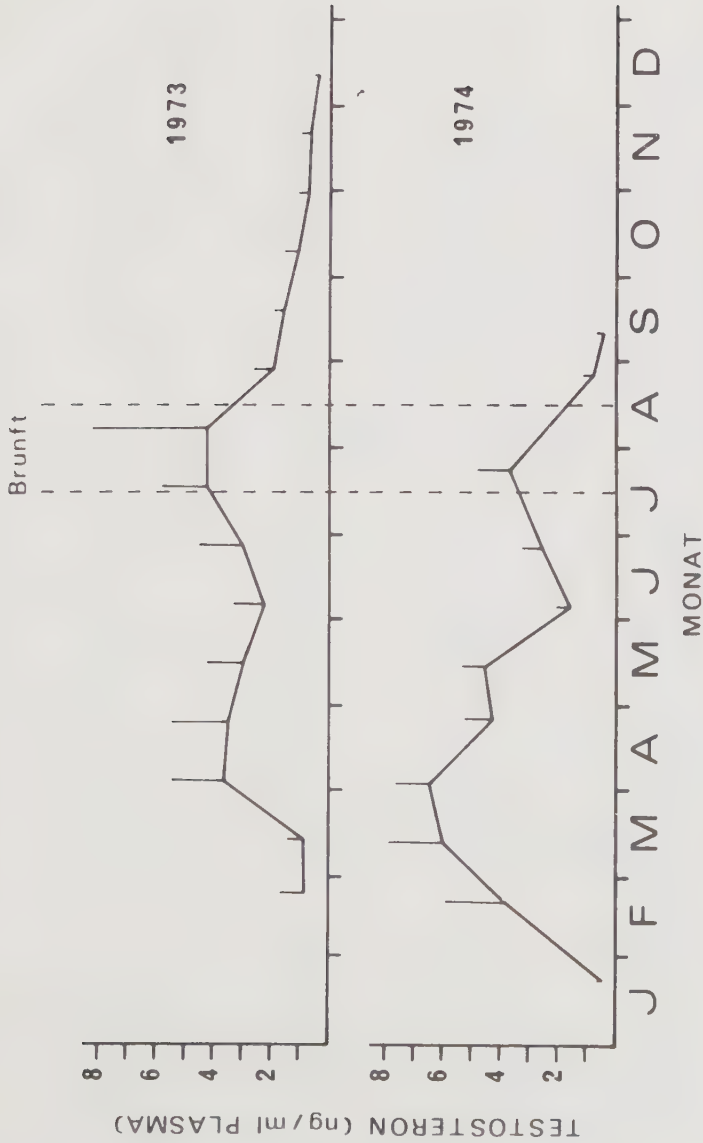


Abb. 23 Testosteronkonzentrationen bei einer Gruppe von 8 jungen Rehböcken im Verlauf von 19 Monaten. Mittelwerte ($S \pm$)

Anfang April waren die Konzentrationen bereits auf durchschnittlich $3,7 (\pm 1,82)$ ng/ml Plasma angestiegen. Darauf folgte ein leichter Abfall der Konzentrationen auf $2,29 (\pm 1,18)$ ng/ml Plasma Anfang Juni. Nach einem erneuten Anstieg wurden Höchstwerte von durchschnittlich $4,23 (\pm 1,58)$ ng/ml Plasma bzw. $4,23 (\pm 4,07)$ ng/ml Plasma Mitte Juli bzw. Anfang August gemessen. Wie aus den Standardabweichungen zu ersehen ist, ergaben sich speziell während dieser Periode starke Unterschiede in den Testosteronkonzentrationen zwischen den einzelnen Tieren. Es folgte dann ein relativ schneller Abfall, Ende August lagen die Konzentrationen bereits bei nur $1,90 (\pm 0,74)$ ng/ml Plasma, ein Tiefstwert von $0,34 (\pm 0,11)$ ng/ml Plasma war im Dezember zu beobachten. Die Konzentrationen blieben dann weiter niedrig bis Ende Januar 1974. Im Februar wurde dann wieder ein Anstieg der Werte auf $3,86 (\pm 2,13)$ ng/ml Plasma festgestellt, die Konzentrationen erreichten maximale Werte von $6,45 (\pm 1,24)$ ng/ml Plasma Anfang April. Darauf folgend zeigte sich im gleichen Monat ein leichter Abfall der Werte und die Konzentrationen blieben bei ca. 4,5 ng/ml Plasma bis Mitte Mai. Parallel zum Abfall der Testosteronkonzentrationen im Vorjahr wurde auch Anfang Juni 1974 ein Abfall der Testosteronwerte beobachtet. Danach stiegen die Konzentrationen auf $2,58 (\pm 0,69)$ ng/ml Plasma und fielen dann bis September auf Werte von $0,40 (\pm 0,12)$ ng/ml Plasma.

Der Verlauf der Testosteronkonzentrationen im Blut bei den einzelnen Rehböcken während der Untersuchungsperiode ist zur weiteren Verdeutlichung noch in den Abbildungen 24 und 25 dargestellt. Aus den Abbildungen geht hervor, daß bei gleicher Verlaufstendenz der Testosteronkonzentrationen bei den einzelnen Tieren (s.o.) erhebliche Unterschiede in den Absolutwerten zwischen den Tieren zu erkennen waren.

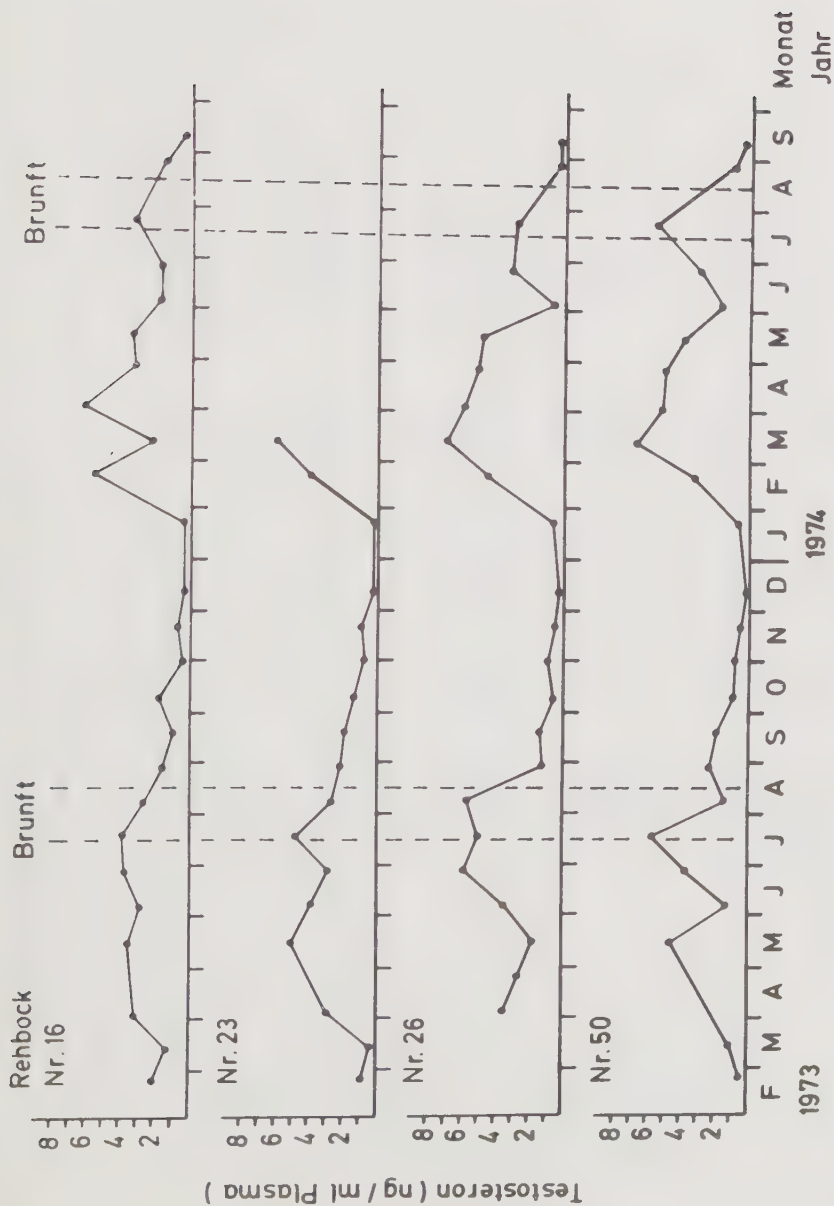


Abb. 24 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma bei 4 jungen Rehböcken im Verlauf von 19 Monaten

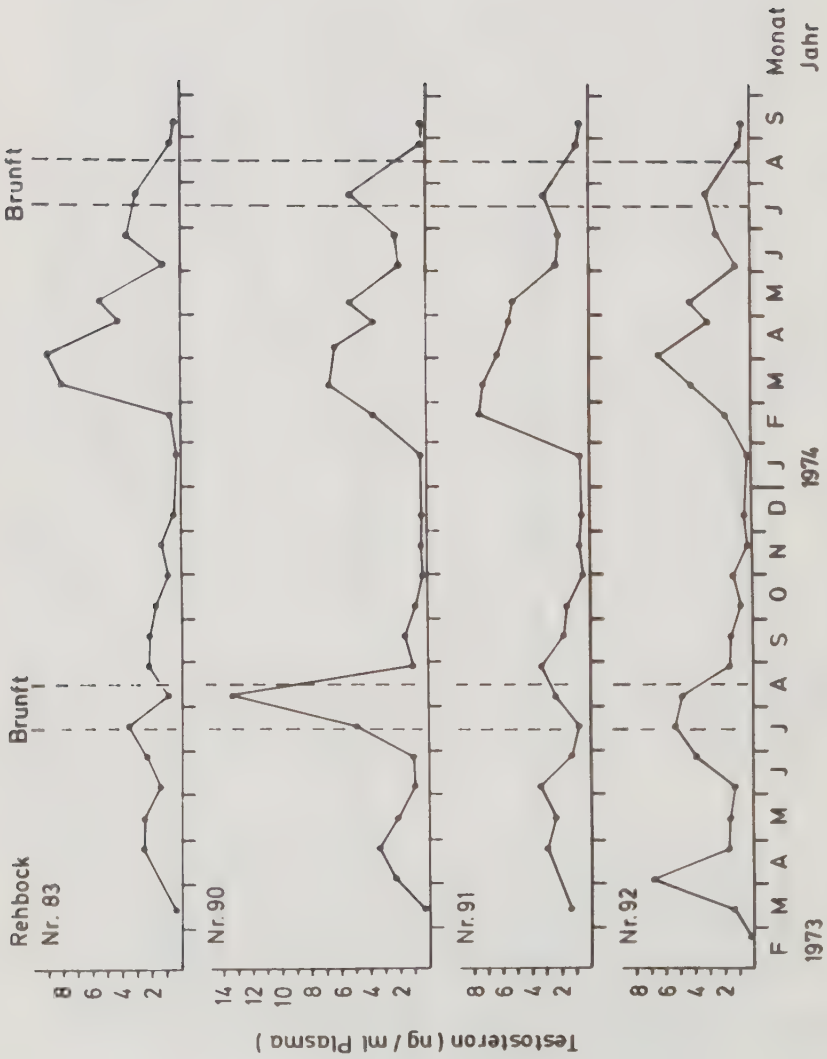


Abb. 25 Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma bei 4 jungen Rehböcken im Verlauf von 12 Monaten

Dies gilt insbesondere während der Brunftperiode, während z.B. bei den Rehböcken Nr. 16, 83 und 91 maximale Konzentrationen von 3,8; 3,6 bzw. 2,3 ng/ml Plasma innerhalb der ersten Brunftperiode gemessen wurden, wurde beim Rehbock Nr. 90 eine Konzentration von 13,5 ng/ml Plasma während der gleichen Periode festgestellt. Auffallend bei dieser Untersuchung war, daß die Testosteronkonzentrationen im Jahr 1974 bereits im Februar Werte von mehr als 3 ng erreichten, während dies im vorausgehenden Jahr 1973 erst im April der Fall war.

3.2.2. Testosteronkonzentration im peripheren Blutplasma bei einem Rehbock im Verlauf von 13 Stunden

Beim Rehbock Nr. 50 wurden über einen Zeitraum von 13 Stunden stündlich Blutproben gewonnen und der Verlauf der Testosteronkonzentrationen untersucht. Das Ergebnis ist Abbildung 26 dargestellt. Es zeigte sich, daß die Testosteronkonzentrationen erhebliche Schwankungen während des Tagesverlaufes aufweisen. Nach einem Abfall der Werte von 5,2 ng um 6:15 Uhr auf 2,1 ng um 9:15 Uhr folgte dann ein relativ kontinuierlicher Anstieg der Konzentrationen bis auf 6,1 ng/ml Plasma um 13:15 Uhr; anschließend fielen die Werte wieder ab und blieben bei Konzentrationen um ca. 1,5 ng/ml Plasma zwischen 17 Uhr und 18 Uhr.

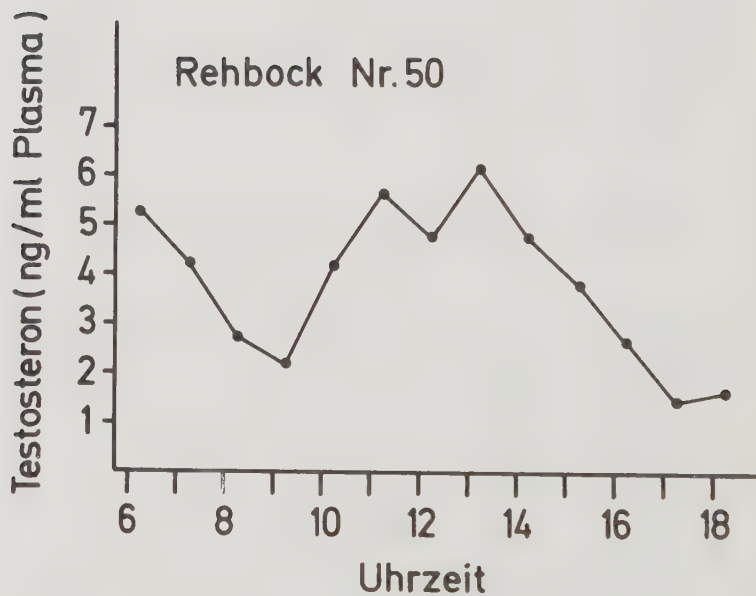


Abb. 26 Verlauf der Testosteronkonzentration im peripheren Plasma bei einem Rehbock über eine Zeitspanne von 13 Stunden

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methode

Für die Durchführung vorliegender Untersuchungen war von Anfang an daran gedacht worden, ein radioimmunologisches Meßverfahren anzuwenden. Allgemein haben sich diese Verfahren aufgrund ihrer Spezifität, Empfindlichkeit und schnellen Durchführbarkeit als die bis jetzt geeignetsten Methoden für die Bestimmung von Steroidhormonen in Mengen von 10^{-9} - 10^{-12} g erwiesen.

Abhängig von der Spezifität der zur Verfügung stehenden Antisera ist es sogar möglich geworden, einige Steroidhormone nach einfacher Extraktion einer Plasmaprobe entsprechend spezifisch zu messen. Wie allgemein bekannt, wird das freie sowie das an den Plasmaproteinen gebundene Steroid extrahiert.

Das im Rahmen vorliegender Untersuchungen verwendete Antiserum zur Bestimmung von Testosteron war gegen Testosteron-3-CMO-RSA gerichtet und zeigte - soweit es die durchgeführten Untersuchungen ergaben - lediglich gegen 5 α -DHT nennenswerte Kreuzreaktionen (Kreuzreaktion = 75,8 %). Im Verlauf der Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, daß 5 α -DHT im Plasma vom männlichen Rind nicht oder nur in so geringen Konzentrationen vorkommt, daß die Testosteronbestimmung nicht beeinflusst wird. Dies ergab sich aus Parallelbestimmungen, in denen Testosteron einmal direkt nach einfacher Plasmaextraktion und einmal nach einer Isolierung, d.h. der Abtrennung von 5 α -DHT, gemessen wurde. Demnach muß das angewandte Verfahren zur Bestimmung von Testosteron beim Rind nach einfacher Plasmaextraktion als spezifisch angesehen werden. Auch die weiteren an die Zuverlässigkeit gestellten Ansprüche haben sich, wie in Kapitel 2.2.6. ausführlich dargestellt ist, erfüllt.

Lediglich bei Anwendung der beschriebenen Methode zur Bestimmung von Testosteron beim Rehbock muß hinsichtlich der Spezifität eine gewisse Einschränkung gemacht werden. Wie bereits auf Seite 55 erwähnt ist, wurden die vergleichenden Testosteronbestimmungen vor und nach Abtrennung von 5 α -DHT aus Materialmangel nur mit Bullenplasma durchgeführt. Es ist demnach nicht auszuschließen, daß beim Rehbock die Testosteronmeßwerte durch möglicherweise im Plasma vorhandenes 5 α -DHT geringgradig beeinflusst sind. Dies würde jedoch die Aussage hinsichtlich der inkretorischen Aktivität der Hoden nicht schmälern, da, wie auf Seite 6 bereits erwähnt wurde, 5 α -DHT ein peripheres Umwandlungsprodukt des im Hoden gebildeten Testosterons ist. Außerdem hat sich bei mehreren Spezies, wie Mensch (Lox et al. 1974), Schwein (Elsaesser et al. 1973) und Rind (wie vorliegende Untersuchungen ergaben), gezeigt, daß zumindestens beim gesunden männlichen Tier die Bestimmung von Testosteron mit einer Proteinbindungsreaktion (s. Seite 54) nach einfacher Plasmaextraktion als spezifisch anzusehen ist. Ein Analogieschluß scheint auch für den Rehbock gerechtfertigt zu sein. Aufgrund des verwendeten Antigens (s. Kapitel 2.2.3.2.2.) zeigte der für die Androstendionbestimmung eingesetzte Antikörper nicht mit 5 α -DHT, dafür aber mit Testosteron eine fast 100-prozentige Kreuzreaktion. Durch den bei der Androstendionbestimmung eingeschalteten säulenchromatographischen Trennschritt wurden beide Steroidhormone gut getrennt, wodurch eine spezifische Androstendionbestimmung möglich war. Ebenso müssen Reproduzierbarkeit und Genauigkeit des Verfahrens als zufriedenstellend bezeichnet werden.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Beim Rind

Die durchgeführten intensiven Untersuchungen an 4 Bullen (3 x pro Woche Blutentnahme) von der Geburt bis zum 18. Lebensmonat haben gezeigt, daß die Pubertät durch einen Anstieg der Testosteronkonzentration im peripheren Plasma gekennzeichnet ist. Damit werden frühere Untersuchungen, in denen die Testosteronkonzentrationen in den Hoden (Lindner 1959, Lindner & Mann 1961), sowie stichprobenartig im Plasma von Schlachttieren (Rawlings et al. 1972) bestimmt worden waren, bestätigt.

In den eigenen Untersuchungen konnte bei 3 von den untersuchten Tieren (Bullen Kaliro, Lado und Nydo) - wohl aufgrund der hohen Frequenz der Blutentnahmen - ein in 2 Phasen verlaufender Anstieg der Testosteronwerte beobachtet werden. Dieser neuartige Befund steht im Einklang mit früheren Untersuchungen von McMillan & Hafs (1969), die für den Fruktosegehalt im Samenplasma einen ähnlichen 2-phasigen Anstieg im Verlauf der Pubertät messen konnten.

Untersuchungen in Hodengewebe (Lindner 1959, Lindner & Mann 1961, Savard et al. 1961, Karg & Struck 1966) sowie im Plasma der Vena spermatica (Lindner 1959, 1961, Savard et al. 1961) haben gezeigt, daß das Verhältnis von Androstendion zu Testosteron sich von 10 : 1 unmittelbar nach der Geburt auf weniger als 1 : 10 mit zunehmendem Lebensalter verändert. Die eigenen durchgeführten Untersuchungen, in denen Testosteron und Androstendion parallel in den gleichen Plasmaproben gemessen wurden, lassen eine entsprechende Aussage für das periphere Plasma nicht zu. Die gemessenen Androstendionkonzentrationen lagen relativ konstant zwischen "nicht mehr meßbaren Werten" und 0,75 ng/ml

Plasma und ließen keine Beziehungen zu Veränderungen in den Testosteronkonzentrationen erkennen. Ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Veränderungen in den Testosteron- und Androstendionwerten im Plasma konnten Rawlings et al. (1972) feststellen, die - wie bereits oben erwähnt - Untersuchungen am Schlachthofmaterial machten. Anders als in den eigenen Untersuchungen schwankten die Androstendionkonzentrationen jedoch zwischen weniger als 0,01 ng/ml Plasma und bis zu durchschnittlich 10 ng/ml Plasma. Eine Erklärung, warum Rawlings et al. (1972) Androstendionwerte bis zu 10 ng/ml Plasma messen konnten, während in den eigenen Untersuchungen Konzentrationen von 0,75 ng/ml Plasma nicht überschritten wurden, kann nicht gegeben werden. Möglicherweise handelt es sich hier um ein Problem der Stichprobenentnahme.

Die bisher geführte Diskussion basierte auf den bei den Bullen Kabine, Lado und Nydo erzielten Ergebnissen. Nicht berücksichtigt wurde bisher der Bulle Kaliro, der als Ausnahme in dem untersuchten Tierkollektiv bezeichnet werden muß. Dies zeigte sich nicht nur an dem zu einem späten Zeitpunkt (im 6. Lebensmonat) stattfindenden Testosteronanstieg im peripheren Plasma, sondern auch daran, daß die körperliche Entwicklung des Tieres retardiert war und die Hoden eine von der Norm abweichende Konsistenz aufwiesen⁺; (allerdings wurden von diesem Bullen im erwachsenen Zustand auch fruchtbare Besamungen durchgeführt).

Die sich mit dem allmählichen Anstieg der Testosteronwerte im Plasma zeigenden starken Konzentrationsschwankungen von Probe zu Probe bei den einzelnen Bullen legten den Gedanken nahe, Untersuchungen anzustellen,

⁺) Diese Untersuchung wurde von Prof. Aehnelt, Tierärztliche Hochschule Hannover, durchgeführt.

ob beim Bullen, ähnlich wie beim Mann (s. Kapitel 1.4.1.), ein Tagesrhythmus in der Testosteronproduktion besteht. Aufgrund der in Kapitel 3.1.3. dargestellten Einzelergebnisse kann eindeutig gesagt werden, daß die Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma beim geschlechtsreifen Bullen sowie bei Tieren im Verlauf der Pubertät starken Tagesschwankungen unterworfen sind. Dank der großen Probenzahl und der langfristigen Untersuchungsperiode konnte die Gesamt-Tendenz der Testosteronkurven statistisch abgesichert werden (s. auch Tabelle IX).

Die durchgeführten Untersuchungen lassen jedoch noch nicht die Aussage zu, ob es sich um einen definierten Tagesrhythmus oder um mehr oder weniger episodische Schwankungen handelt. Während die Testosteronmessungen in Plasmaproben, die in kurzen Abständen über einen Zeitraum von 8 Stunden in insgesamt 3 Versuchsperioden bei 2 Tieren gewonnen worden waren, einen klaren Tagesrhythmus erkennen lassen - die Verlaufskurven sind beinahe identisch -, läßt das bei den anderen beiden Bullen erzielte Ergebnis diese eindeutige Aussage nicht zu. Hier wiesen insbesondere die beim Bullen Gilch (Erfassungszeitraum 48 Stunden) gemessenen Testosteronkonzentrationen starke Unregelmäßigkeiten auf. Generell kann jedoch auch für dieses Tier die Feststellung getroffen werden, daß - ähnlich wie bei den anderen untersuchten Bullen - erhöhte Testosteronwerte zwischen ca. 8 - 10 Uhr und wieder zwischen 13 - 16 Uhr gemessen wurden. Weitere Untersuchungen scheinen notwendig zu sein, um eine definitive Erklärung ob "Tagesrhythmus" oder "Episodik" herbeiführen zu können. Mit dieser Fragestellung wird auch automatisch das Problem bezüglich der übergeordneten, die Testosteronproduktion steuernden Faktoren angeschnitten.

Auf die Bedeutung des hypothalamisch-hypophysären Regelzentrums wurde bereits in Kapitel 1.3.3.1. hingewiesen, in dem auch die Befunde von Schams und Butz (1972) zitiert sind, die bei Bullen von der Geburt bis zur Geschlechtsreife keine signifikanten Veränderungen in den LH-Konzentrationen im Plasma feststellen konnten. Es handelte sich bei ihren Untersuchungen um die gleichen 4 Tiere (Bullen Kabine, Kaliro, Lado und Nydo) und Plasmaproben, die im Rahmen vorliegender Untersuchungen für die Testosteronmessungen herangezogen wurden. Auf die sich aus diesen Befunden ergebende Diskrepanz zur üblichen Lehrbuchmeinung bezüglich des Eintrittes der Pubertät (Desensibilisierungstheorie) wurde ebenfalls in Kapitel 1.3.3.1. bereits kurz hingewiesen. Auch nach Abschluß der eigenen Untersuchungen kann keine Erklärung dafür gegeben werden, warum bei konstant bleibenden LH-Werten ab einem gewissen Alter der Tiere ein konstanter Anstieg der Testosteronkonzentrationen im Plasma erfolgt. In die diese Problematik betreffende Diskussion muß sicherlich die Frage mit einbezogen werden, ob das auf immunologischem Wege gemessene LH, d.h. das immunoreaktive LH, in den verschiedenen Entwicklungsphasen auch die gleiche biologische Wirkung aufweist. Eine weitere Frage wäre, inwieweit im Erfolgsorgan Hoden qualitative und quantitative Veränderungen der LH-Rezeptoren im Verlauf der Entwicklung zu beobachten sind. Hinweise, daß ab einem gewissen Lebensalter die Unterschiede zwischen präpuberalen und puberalen Tieren eher qualitativer statt quantitativer Art zu sein scheinen (d.h. sie sind von der Anwesenheit bestimmter intrazellulärer Mechanismen abhängig), ergeben sich aus Untersuchungen von Hafs und Mitarbeitern (s. bei Hafs 1974). In ihren Untersuchungen mit einem synthetischen Gonadotropin-Releaserhormon (Decapeptid nach Schally 1971) wurde - unabhängig vom Alter der Tiere - ein stets gleich hoher LH-Anstieg provoziert.

Der als Folgereaktion induzierte Testosteronanstieg war jedoch deutlich altersabhängig, erst bei 6 Monate alten Tieren konnten nach den durchgeführten Behandlungen Testosteronkonzentrationen gemessen werden, die denen bei erwachsenen Bullen ähnlich waren. Auch die Frage nach den einen Tagesrhythmus oder eine Episodik steuernden, übergeordneten Faktoren kann hier nur spekulativ erörtert werden. Die eigenen Untersuchungen ergaben in diesem Zusammenhang keinerlei Hinweise, daß äußere Faktoren, wie Haltung der Tiere, Fütterung etc., eine Rolle spielen. Auch eine Bedeutung der Tageslichtlänge konnte bei den kurzfristig durchgeführten Versuchen nicht erkannt werden. Ebenso muß hier die Wirkungsweise des unmittelbar vorge-schalteten Hypophysenvorderlappen-Hormons LH als noch nicht erkannt angesehen werden. Während Untersuchungen von Katongole et al. (1971) einen deutlichen Zusammenhang zwischen einem vorausgehenden LH-Anstieg und einem nach-folgenden Testosteronanstieg ergaben, konnte dieses Ergeb-nis von anderer Seite bisher noch nicht reproduziert werden. Diese von Schams und Mitarbeitern (Schams et al. 1975, Publikation in Vorbereitung) in den für vorliegende Untersuchungen gewonnenen Plasmaproben durchgeführten LH-Messungen ergaben nur kurzfristige und geringgradige Anstiege in den LH-Werten, die nur in einigen Fällen den Schluß zulassen, daß über eine unmittelbare Mitkopplung ein meßbarer Testosteronanstieg erfolgen kann. In dieser Publikation werden auch die noch nicht abgeschlossenen FSH-Veränderungen mitgeteilt.

4.2.2. Beim Rehbock

In Übereinstimmung mit den in der Literatur beschriebenen Untersuchungen (s. Kapitel 1.3.3.2.) wurde auch bei den vorliegenden Untersuchungen ein determinierender

saisonaler Einfluß auf die inkretorische Aktivität der Hoden beobachtet (s. Kapitel 3.2.1.). Während jedoch bei den Jährlingen, also Böcken, die erstmals in die Sexualaktivität eintraten, der Testosteronanstieg erst im April gemessen werden konnte, war dies bei den gleichen Tieren im darauffolgenden Jahr bereits im Februar der Fall. Auch die Absolutwerte lagen - soweit sie in der 2. Fortpflanzungsperiode (1974) gemessen wurden - höher als im entsprechenden Zeitabschnitt im vorausgehenden Jahr. Unterschiede im Futterangebot bzw. in der Tierhaltung können hierfür nicht verantwortlich gemacht werden, da diesbezüglich keine Veränderungen vorgenommen wurden. Auch die Einwirkung anderer externer Faktoren scheint als Erklärung für diese Beobachtung auszuschließen, da sich ja - unabhängig von gewissen kleinklimatischen Schwankungen von Jahr zu Jahr - die Tageslichtlänge, die als dominierender Faktor für die Steuerung des saisonalen Fortpflanzungsgeschehens angesehen wird (Marshall 1936), einen von Jahr zu Jahr konstant bleibenden Verlauf zeigt. Es ist vielmehr anzunehmen, daß die Tendenz der zeitlichen Verschiebung des Testosteronanstiegs sowie die Unterschiede in den erreichten Höchstwerten (obwohl statistisch nicht gesichert; $P < 0.20$) in diesem Fall vom Alter abhängig ist. Demnach würden in der ersten Fortpflanzungsperiode, in der ja erstmals der Reifezustand erreicht wird, die Hoden eine niedrigere inkretorische Aktivität aufweisen, als in der folgenden Periode.

Ähnlich wie beim Bullen ergaben auch die bei einem Rehbock durchgeführten Untersuchungen, daß innerhalb eines Tages die Testosteronkonzentration im Plasma starke Schwankungen aufweist. Die in den eigenen Untersuchungen gemachten Beobachtungen, daß zwischen den Tieren, bei denen die Blutentnahme am gleichen Tag

erfolgte, starke Unterschiede in den Testosteronkonzentrationen gemessen wurden, werden darauf zurückgeführt. Ob es sich beim Rehbock um einen Tagesrhythmus oder um episodische Schwankungen handelt, kann hier noch schwerer als beim Bullen beantwortet werden (limitierte Stichprobenzahl aufgrund der Schwierigkeiten bei der Gewinnung von Plasmaproben).

Auch die Frage der Steuerung der inkretorischen Aktivität der Hoden kann hier nur indirekt diskutiert werden, da die notwendigen Daten über das Vorkommen von LH im peripheren Plasma und damit über die Abgabe aus der Hypophyse nicht vorliegen. Brüggemann et al. (1965) konnten jedoch zeigen (s. Kapitel 1.4.2.), daß parallel zur Zunahme der Kernvolumina der Leydigzellen in den Monaten Mai bis Juni auch ein Anstieg in der ICSH (LH)-Konzentrationen im Hypophysenvorderlappen erfolgt. Während sich bei Short und Mann (1966) die Tendenz eines relativ konstant verlaufenden Testosteronanstiegs in den Hoden von Januar bis zu Beginn der Brunft zeigt, lassen die eigenen Untersuchungen im peripheren Blutplasma die Aussage zu, daß bis zur Mitte der Brunftperiode weiterhin Änderungen in der Biosynthese und Sekretion des Hormons in nicht kontinuierlicher Weise erfolgen.

Der Befund biphasischer Testosteronanstiege bis zur Kulmination zum Brunftbeginn konnte in beiden Untersuchungsjahren übereinstimmend gemessen werden. Insgesamt dürften aber die Befunde über die Testosteronschwankungen für die allgemeine Aussage der Saisonbezogenheit der Testosteronwerte nicht beeinträchtigt sein, weil die Gesamtrendenz der Mittelwerte und die Übereinstimmung der Werte in aufeinanderfolgenden Jahren funktionsbezogen erscheint.

Short und Mann (1966) haben gezeigt, daß die Entwicklung der Tubuli seminiferi und die Anwesenheit von primären Spermatozyten ab Mitte Februar, das Eintreten von sekundären Spermatozyten um Mitte März, und die Vollendung der Spermatogenese in den Monaten April - Mai stattfindet. In der Zeit von Ende Januar bis Ende März wird eine rasche Entwicklung des Geweihs beobachtet (Gehörn im Bast). Nach den vorliegenden Untersuchungen geht der erste Testosteronanstieg mit dieser Entwicklung in den ersten Monaten des Jahres einher. Die Rückläufigkeit des Testosteronanstiegs vor dem Ende April (bis Juni) ist durch die Fegezeit und Calcifizierung des Geweihs gekennzeichnet. Übereinstimmend mit dem zweiten Testosteronanstieg (s. auch Tabelle XIX) findet in den Monaten Juli - August die Paarungssaison statt.

Ausgehend von dem Konzept (Karg 1969), daß das Ingangkommen einer Saisonbrunft eine Ähnlichkeit mit einer rekapitulierten Pubertät aufweist, bietet die Feststellung des biphasischen Anstiegs von Testosteron beim Rehbock eine interessante Parallele zu den in vorliegender Arbeit geschilderten Befunden über den biphasischen Testosteronanstieg bei der Geschlechtsreife des Bullen. Aus dem zunächst pädagogischen Konzept sind aber möglicherweise funktionelle, d.h. allgemein biologische Erkenntnisse abzuleiten.

5. Zusammenfassung

Für die Messung von Testosteron und Androstendion im peripheren Plasma vom Rind wurden radioimmunologische Meßverfahren eingerichtet. Als Antigene kamen die im Labor synthetisierten Verbindungen Testosteron-3-CMO-RSA und Testosteron-17-Hemisuccinat-RSA zum Einsatz. Neben der Spezifität konnten auch alle anderen Ansprüche an die Zuverlässigkeit des Verfahrens abgesichert werden. Das entwickelte Verfahren zur Bestimmung von Testosteron wurde auch bei Blutproben von Rehböcken angewandt.

Testosteron-Messungen im peripheren Plasma von 4 Brauviehbullen von der 1. bis zur 72. Lebenswoche ergaben Konzentrationen unter 1 ng/ml Plasma bis zur 21. bzw. 27. und 39. Lebenswoche. Danach zeigte sich ein zweiphasiger Anstieg der Konzentrationen, der bei 3 der untersuchten Bullen deutlich ausgeprägt war. Bei dem 4. Tier zeigte sich dieser Anstieg protrahiert erst ab der 39. Lebenswoche.

Die bei den gleichen 4 Bullen stichprobenartig erfaßten Androstendionkonzentrationen lagen stets unter 1 ng/ml Plasma. Untersuchungen bei 4, 8, 20 und 40 Wochen alten männlichen Rindern sowie bei zwei erwachsenen Bullen ergaben, daß die Testosteronkonzentrationen starke Tagesschwankungen aufweisen (von 1 bis auf 18 ng/ml Plasma). Generell kann gesagt werden, daß bei den untersuchten Bullen erhöhte Testosteronwerte zwischen ca. 8 - 10 Uhr und wieder zwischen 13 - 16 Uhr gemessen wurden.

Bei einer Gruppe von 8 Rehböcken wurden Proben vom 9. bis zum 28. Lebensmonat gewonnen und die Testosteronkonzentrationen gemessen. Es ergab sich dabei, daß

die inkretorische Funktion der Hoden eindeutig saisonabhängig ist und daß der Testosteronanstieg vor der Brunftperiode in zwei Phasen eintritt.

In einem weiteren Versuch bei einem Rehbock wurde gezeigt, daß auch bei dieser Spezies große Unterschiede in den Testosteronkonzentrationen im Verlauf eines Tages auftreten.

S u m m a r y

Radioimmunoassays for the measurement of testosterone and androstenedione in blood plasma were developed. For the production of antibodies against both steroids, testosterone was bound in the positions 3 and 11 respectively to bovine serum albumin in the laboratory and used as an antigen. With regard to specificity and other reliability criteria the methods used proved to be satisfactory.

Plasma testosterone in 4 brown-swiss bulls from the 1st to the 72nd week of age showed concentrations of less than 1 ng/ml plasma until the 21st, 27th and 39th week of age respectively. A 2-phase increase was observed afterwards, which was most marked in 3 out of the 4 bulls. The testosterone increase in the 4th bull did not appear until the 39th week of age.

Androstenedione concentrations obtained from random samples from the same 4 bulls were always under 1 ng/ml plasma. In a series of experiments performed with calves which were 4, 8, 20 and 40 weeks old respectively as well as with two mature bulls, it was shown that the testosterone concentration in peripheral plasma varies markedly throughout the day (from 1 up to 18 ng/ml plasma). In general it can be said that the animals examined showed higher testosterone levels from 8 to 10 and from 13 to 16 hours.

Blood samples for the determination of testosterone were collected from a group of 8 male Roe deer from the 9th to the 28th month of age. It was shown that the hormonal secretory activity of the testes is highly

dependent on the season, and that the testosterone increase before each rut season occurs in two phases. A further experiment with one roe deer showed that also in this species there are marked variations in the testosterone concentration in peripheral plasma during the day.

6. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- Aakvaag A., Tveter K.J., Unhjem O. and Attramadal A. 1972
Receptors and binding of androgens in the prostate.
J. Steroid Biochem. 3, 375-384
- Abraham G.E. 1969
Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17 β .
J. Clin. Endocr. 29, 866-870
- Abraham G.E., Lobotsky J. and Lloyd C.W. 1969
Metabolism of testosterone and androstenedione in
normal and ovariectomized women.
J. Clin. Invest. 48, 696-703
- Abramovich D.R. 1974
Human sexual differentiation - In utero influences.
J. Obstet. Gynaecol. Brit. Common. 81, 448-453
- Abramovich D.R. and Rowe P. 1973
Foetal plasma testosterone levels at mid-pregnancy
and at term: Relationship to foetal sex.
J. Endocr. 56, 621-622
- Ahmed J. 1973
A method for the determination of plasma testosterone
by competitive protein-binding after chromatography
on Sephadex-LH-20.
Clinica Chimica Acta 43, 371-378
- Alford F.P., Baker H.W.G., Patel Y.C., Rennie G.C.,
Youatt G., Burger H.G. and Hudson B. 1973a
Temporal patterns of circulating hormones as
assessed by continuous blood sampling.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 36, 108-116
- Alford F.P., Baker H.W.G., Burger H.G., de Kretser D.M.,
Hudson B., Johns M.W., Masterton J.P., Patel Y.C.
and Rennie G.C. 1973b
Temporal patterns of integrated plasma hormone levels
during sleep and wakefulness. II. Follicle-stimulating
hormone, luteinizing hormone, testosterone and estradiol.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 37, 848-853

- Almquist J.O. and Barber K.A. 1974
Puberal characteristics and early growth of
charolais bulls on high nutrient allowance.
J. Anim. Sci. 38, 831-834
- Arman P. 1974
A note on parturition and maternal behaviour in
captive red deer (*Cervus elaphus*).
J. Reprod. Fert. 37, 87-90
- Asdell S.A. 1946
Patterns of mammalian reproduction.
1st Edition, Cornell University Press, Ithaca New York
- Asdell S.A. 1964
Patterns of mammalian reproduction.
2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca New York
- Attal J. 1969
Levels of testosterone, androstenedione, estrone and
estradiol-17 β in the testes of fetal sheep.
Endocrinology 85, 280-289
- Baird D.T., Burger P.E., Heavon-Jones G.D. and
Scaramuzzi R.J. 1973
Androstenedione: A secretory product of the
Graafian follicle.
J. Endocrinol. 59, Proc. Soc. Endocrinol. xxxvi
- Baker T.G. 1972
Primordial germ cells.
In: Reproduction in mammals, Vol. I Germ cells
and Fertilization 1-13
Eds. Austin C.R. & Short R.V.
Cambridge University Press
- Barbeira J.M., Giner J. and Cortés-Gallegos V. 1973
Diurnal variations of plasma testosterone in men.
Steroids 22, 615-626
- Bell J.B.G. 1972
In vitro testosterone production from endogenous
precursors by the seminiferous tubules and
interstitium of the human testis.
Steroids and Lipids Res. 3, 315-320

- Bloch E. 1967
The conversion of 7-³H-pregnenolone and
4-¹⁴C-progesterone to testosterone and
androstenedione by mammalian fetal testes in vitro.
Steroids 9, 415-430
- Bodenheimer S., Winter J.S.D. and Faiman C. 1973
Diurnal rhythms of serum gonadotropins, testosterone,
estradiol and cortisol in blind men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 37, 472-475
- Boon D.A., Keenan R.E. and Slaunwhite W.R.Jr. 1972
Plasma testosterone in men: Variation but not
circadian rhythm.
Steroids 20, 269-278
- Bowers C.Y., Currie B.L., Johansson K.N.G. and
Folkers K. 1973
Biological evidence that separate hypothalamic
hormones release the follicle stimulating and
luteinizing hormones.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 50, 20-26
- Briggs M.H. & Brotherton J. 1970
Steroid Biochemistry and Pharmacology
Academic Press London and New York
- Brüggemann J., Adam A. und Karg H. 1965
ICSH-Bestimmungen in Hypophysen von Rehböcken
(Capreolus capreolus) und Hirschen (Cervus elaphus)
unter Berücksichtigung des Saisoneinflusses.
Acta endocrinol. 48, 569-580
- Brüggemann J. & Karg H. 1965
Hormonal regulation of the rut in the male
Red-Deer and Roe Deer.
VIIe Congres des Biologistes du Gibier 73-79
Beograd-Ljubljana, septembre
- Bubenik G.A. & Brown G.M. 1974
Immunohistological localization of testosterone
in the growing antler of the White-Tailed deer
(Odocoileus virginianus).
Calc. Tiss. Res. 14, 121-130

- Bullock L.P. & Bardin C.W. 1972
Androgen receptors in testicular feminization.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 35, 935-937
- Butt W.R. 1967
Hormone Chemistry
D. Van Nostrand Company Ltd. London
- Castro A., Shih H. and Chung A. 1973
A direct plasma testosterone radioimmunoassay.
Experientia 29, 1447-1448
- Challis J.R.G., Kim C.K., Naftolin F., Judd H.L.,
Yen S.S.C., and Benirschke K. 1974
The concentrations of androgens, oestrogens,
progesterone and luteinizing hormone in the serum
of foetal calves throughout the course of gestation.
J. Endocrinol. 60, 107-115
- Collins W.P., Mansfield M.D., Alladina N.S. and
Sommerville I.F. 1972
Radioimmunoassay of plasma testosterone.
J. Steroid Biochem. 3, 333-348
- Concolino G. & Marocchi A. 1972
A simple procedure for the combined determination of
plasma estrogen and androgen concentrations by
competitive protein binding analysis.
J. Steroid Biochem. 3, 725-733
- Corvol P. & Bardin C.W. 1973
Species distribution of testosterone-binding globulin.
Biol. Rep. 8, 277-282
- Courot M. 1971
An experimental study of the endocrine control of
the establishment of spermatogenesis in the lamb
(Ovis aries). Importance of cells of the
sertoli line.
D. Sc. Thesis, Paris

- Cupps P.T., Anderson L.L. and Cole H.H. 1969
The estrous cycle
In: Reproduction in domestic animals, 217-250
Eds. Cole H.H. and Cupps P.T.
Academic Press New York and London
- Currie B.L., Gunnar K.N.G. Johansson, Folkers K.
and Bowers C.Y. 1973
On the chemical existence and partial purification
of the hypothalamic follicle stimulating hormone
releasing hormone.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 50, 14-19
- David K., Dingemanse E., Freud J. und Laqueur E. 1935
Über kristallinisches männliches Hormon aus Hoden
(Testosteron), wirksamer als aus Harn oder aus
Cholesterin bereitetes Androsteron.
Hoppe-Seyler Physiologische Chemie 233, 281-282
- Davidson J.M. & Bloch G.J. 1969
Neuroendocrine aspects of male reproduction.
Biol. Rep. 1, 67-92
- Davidson J.M. & Levine S. 1972
Endocrine regulation of behaviour.
Annual Review of Physiology 34, 375-408
- Dawes G.S. 1969
Foetal and Neonatal Physiology.
Year Book Medical Publishers Inc. Chicago
- Dorfman R.I. 1962
Methods in Hormone Research Vol. 1
Academic Press New York & London
- Dörner G., Stahl F., Rohde W., Halle H., Rössner P.,
Gruber D. und Herter U. 1973
Radioimmunologische Bestimmung des Testosterongehalts
im Fruchtwasser männlicher und weiblicher Feten.
Endokrinologie 61, 317-320

- Eaton G.G., Goy R.W. and Phoenix C.H. 1973
Effects of testosterone treatment in adulthood
on sexual behaviour of female pseudohermaphrodite
Rhesus monkeys.
Nature, New Biology 242, 119-120
- Eberlein W.R., Winter J. and Rosenfield R.L. 1967
The Androgens
In: Hormones in Blood Ed. Gray C.H. & Bacharach A.L.
Vol. II, 187-220
Academic Press New York and London
- Elsaesser F., König A. und Smidt D. 1972
Der Testosteron- und Androstendiongehalt im
Eberhoden in Abhängigkeit vom Alter.
Acta endocrinol. 69, 553-566
- Elsaesser F., Pomerantz D.K., Ellendorf F., Kreikenbaum K.
and König A. 1973
Plasma LH, Testosterone and DHT in the pig from
birth to sexual maturity.
Acta endocr. (Kbh.) 72, Suppl. 173, s. 148
- Emmens C.W. 1969
Physiology of Gonadal Hormones and Related
Synthetic Compounds
In: Reproduction in Domestic Animals Ed. Cole H.H. &
Cupps P.T. Academic Press New York and London
- Erlanger B.F., Borek F., Beiser S.M. and Lieberman S. 1957
Steroid protein conjugates. I. Preparation and
characterization of conjugates of bovine serum
albumin with testosterone and with cortisone.
J. Biol. Chem. 228, 713-727
- Faulkner L.C. 1969
Male Reproduction
In: Veterinary Endocrinology and Reproduction, 189-205
Ed. McDonald L.E., Lea & Febiger Philadelphia

- Forber T.R. 1946
The origin of Freemartin
Bull. Hist. Medicine 20, 461-466
- Forest M.G., Cathiard A.M. and Bertrand J.A. 1973
Total and unbound testosterone in the newborn and
in normal and hypogonadal children: Use of a
sensitive radioimmunoassay for testosterone.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 36, 1132-1142
- Franchimont P. & Chari S. 1974
Control of gonadotropin secretion in man.
4th Int. Congr. Hormonal Steroids (Symposium)
Mexico City, September 5th
- Furuyama S., Mayes D.M. and Nugent C.A. 1970
A radioimmunoassay for plasma testosterone.
Steroids 16, 415-428
- Geigy J.R. 1969
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage, J.R. Geigy S.A., Basle, Switzerland
- Ginther O.J., Whitmore H.L. and Squires E.L. 1972
Characteristics of estrus, diestrus and ovulation
in mares and effects of season and nursing.
Amer. J. Vet. Res. 33, 1935-1940
- Gorski R.A. & Wagner J.W. 1965
Gonadal activity and sexual differentiation of
the hypothalamus.
Endocrinology 76, 226-239
- Goodfriend L. & Sehon A.H. 1958
Preparation of an estrone-protein conjugate.
Can. J. Biochem. Physiol. 36, 1177-1184
- Goodfriend L. & Sehon A.H. 1960
Antigenicity of oestrone-protein conjugates.
Nature 185, 764-766
- Gray C.H. & Bacharach A.L. 1967
Hormones in Blood, Vol. II
Academic Press London & New York

- Guinnes F., Lincoln G.A. and Short R.V. 1971
The reproductive cycle of the female red deer,
Cervus elaphus L.
J. Reprod. Fert. 27, 427-438
- Gupta D., McCafferty and Rager K. 1972
Plasma 5 α -dihydrotestosterone (17 β -hydroxy-5 α -
androstan-3-one) in adolescent males at different
stages of sexual maturation.
Steroids 19, 411-431
- Hafs H. 1974
Hormonal relationships in the bovine male
from birth to puberty.
Seminar in: Gynäkologische und Ambulatorische
Tierklinik, München 9.5.
- Hahn J. & Krause D. 1969
Eintritt der Geschlechtsreife bei Jungbullen (Gutachten)
Deutsche Tierärztl. Wschr. 76a, 241-245
- Haltmeyer G.C. & Eiknes K.B. 1972
Quantification of free dihydrotestosterone in
blood plasma and tissue.
Analytical Biochem. 46, 45-61
- Hansson V., Tveter K.J., Unhjem O. and Djöseland O. 1972
Studies on the interaction between androgen and
macromolecules in male accessory sex organs of
rat and man.
J. Steroid Biochem. 3, 427-439
- Harrison R.W. & Toft D.O. 1973
Testosterone binding in the chick oviduct.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 55, 857-863
- Heinritz K. 1974
Entwicklung von Methoden zur Bestimmung von Östron,
Östradiol-17 β und Progesteron in verschiedenen
Gewebe vom Kalb und deren Anwendung im Rahmen
von Rückstandsuntersuchungen.
Dr. med. vet. Diss. München

Hoffmann B. 1972

Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind;
Entwicklung von Meßverfahren und physiologische Daten.
Habilitationsschrift, Technische Universität
München-Weihenstephan

Hoffmann, Kyrein und Giménez 1974

Radioimmunologische Bestimmung von Testosteron
beim Rind.

Publikation in Vorbereitung

Hohlweg W. & Junkmann K. 1932

Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion
des Hypophysenvorderlappens.

Klin. Wschr. 11, 321-323

Hohlweg W. 1934

Progynon und Sexualzyklus.

Medizinische Mitteilung Schering 6, 9-13

Hohlweg W. 1968

Die Bedeutung der Sexualhormone in der Fötalperiode
für die Determination der Sexualorgane und des
Sexualtriebes.

Wiener Klin. Wschr. 80, 445

Ismail A.A.A., Niswender G.D. and Midgley A.R.Jr. 1972

Radioimmunoassay of testosterone without chromatography.
J. Clin. Endocrinol. 34, 177-184

Ito T. & Horton R. 1970

Dihydrotestosterone in human peripheral plasma.

J. Clin. Endocrinol. 31, 362-368

Jainudeen M.R., Katongole G.B. and Short R.V. 1972

Plasma testosterone levels in relation to musth and
sexual activity in the male asiatic elephant,
Elephas maximus.

J. Reprod. Fert. 29, 99-103

Jeffcoate W.J. & Short R.V. 1970

Dihydrotestosterone in testicular tissue and its
androgenic potency in vivo.

J. Endocrinol. 48, 199-204

- Johansson K.N.G., Currie B.L., Folkers K. and Bowers C.Y. 1973
Biosynthesis and evidence for the existence of
the follicle stimulating hormone releasing hormone.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 50, 8-13
- Jost A. 1965
Gonadal hormones in the sex differentiation
of the mammalian fetus.
In: Organogenesis, 611-628
R.L. DeHaan & H. Ursprung edit.
Holt, Rinehart and Winston, Inc. New York
- Jost A. & Prepin J. 1966
Données sur la migration des cellules germinales
primordiales du foetus de veau.
Archives d'Anatomie et de Morphologie
Expérimentale 55, 161-186
- Jost A., Vigier B., Prepin J. 1972
Freemartins in cattle: The first steps of
sexual organogenesis.
J. Reprod. Fert. 29, 349-379
- Jost A. 1972
Becoming a male.
In: Advances in the Biosciences 10, 3-13
Schering Workshop on Contraception: The Masculine
Gender Berlin, Nov. 29 - Dec. 2.
- Joshi H.S. & Raeside J.I. 1973
Synergistic effects of testosterone and oestrogens on
accessory sex glands and sexual behaviour of the boar.
J. Reprod. Fert. 33, 411-423
- Judd H.L. & Yen S.S.C. 1973
Serum androstenedione and testosterone levels
during the menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 36, 475-481

- Karg H. & Struck H. 1966
Testosterone/androstenedione relationship in
the fetal bovine testis.
Excerpta Med. Int. Congr. Ser. 111, 288
- Karg H. 1966
Studies on the LH-content in the pituitary and the
androgens in the testis of the bovine foetus.
In: Reproduction in the Female Mammal, Proc.
Thirteenth Easter School Agr. Sci., Univ. Nottingham
Ed. G.E. Lamming & E.C. Amoroso, Butterworths
- Karg H. 1969
Hormonale Regulation
In: Handbuch der Tierernährung
Ed. W. Lenkeit, K. Breirem & E. Crasemann
Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin
- Karg H. 1970
Physiologische Grundlagen der Steuerung des Sexualzyklus.
Der Tierzüchter 3, 63-65
- Katongole C.B., Naftolin F. and Short R.V. 1971
Relationships between blood levels of luteinizing
hormone and testosterone in bulls, and the effects
of sexual stimulation.
J. Endocrinol. 50, 457-466
- Kelch R.P., Lindholm U.B. and Jaffe R.B. 1971
Testosterone metabolism in target tissues:
2. Human fetal and adult reproductive tissues,
perineal skin and skeletal muscle.
J. Clin. Endocrinol. 32, 449-456
- Kim Ch.K., Yen S.S.C. and Benirschke K. 1972
Serum testosterone in fetal cattle.
Gen. Comp. Endocrinol. 18, 404-407
- Kinouchi T., Pages L. and Horton R. 1973
A specific radioimmunoassay for testosterone
in peripheral plasma.
J. Lab. Clin. Med. 82, 309-316

- Knorr D., Bidlingmaier F., Butenandt O., Fendel H. and
Ehrt-Wehle R. 1974
Plasma testosterone in male puberty.
Acta endocrinol. 75, 181-194
- Kolb E. 1967
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere.
2. Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
- Lacerda L., Kowarski A., Johanson A.J., Athanasiou R.
and Migeon C.J. 1973
Integrated concentration and circadian variation
of plasma testosterone in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 37, 366-371
- Lea O.A. & Støa K.F. 1972
The binding of testosterone to different serum proteins:
A comparative study.
J. Steroid Biochem. 3, 409-419
- Lea O.A. 1973
Isolation and characterization of a progesterone-
and testosterone-binding globulin from pregnant
guinea pig serum.
Biochem. Biophys. Acta 317, 351-363
- Lee V.W.K., de Kretser D.M., Hudson B. and Wang C. 1974
FSH, LH and testosterone levels in the rat from
birth to sexual maturity.
Proc. Aus. Soc. Rep. Biol.
J. Reprod. Fert. 36, 479-480
- Leidl W. 1958
Klima und Sexualfunktion männlicher Haustiere.
Verlag M. & H. Schaper, Hannover
- Leidl W. & Biegert W. 1967
Pubertät und Zuchtreife bei Höhenfleckviehstieren.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 80, 345-364
- Leidl W., Hoffmann B. und Karg H. 1970
Endokrine Regulation und jahreszeitlicher Rhythmus
der Fortpflanzung beim Ziegenbock.
Zbl. Vet. Med. 17, 623-633

- Leymarie P., Roger M. et Scholler R. 1973
Variations circadiennes de la testostérone
plasmatique chez l'homme adulte normal.
Annales d'Endocrinol. 34, 719-721
- Leymarie P., Roger M., Castanier M. and Scholler P. 1974
Circadian variations of plasma testosterone and
estrogens in normal men. A study by frequent sampling.
J. Steroid Biochem. 5, 167-171
- Liao S., Liang T. and Tymoczko J.L. 1972
Structural recognitions in the interactions of
androgens and receptor proteins and in their
association with nuclear acceptor components.
J. Steroid Biochem. 3, 401-408
- Liao S., Liang T., Fang S., Castañeda E. and Shao T.C. 1973
Steroid structure and androgenic activity.
J. Biol. Chem. 248, 6154-6162
- Lieberman S., Erlanger B.F., Beiser S.M. and Agate F.J.Jr. 1959
Steroid-protein conjugates: Their chemical,
immunochemical and endocrinological properties.
Rec. Prog. Horm. Res. 15, 165-200
- Lincoln G.A., Youngson R.W. and Short R.V. 1970
The social and sexual behaviour of the red deer stag.
J. Reprod. Fert. Suppl. 11, 71-103
- Lincoln G.A., Guinness F. and Short R.V. 1972
The way in which testosterone controls the social and
sexual behaviour of the red deer stag (*Cervus elaphus*).
Hormones and Behaviour 3, 375-396
- Lindner H.R. 1959
Androgens in the bovine testis and spermatocytic vein blood.
Nature 183, 1605-1606
- Lindner H.R. & Mann T. 1960
Relationship between the content of androgenic
steroids in the testes and the secretory activity
of the seminal vesicles in the bull.
J. Endocrinol. 21, 341-360

- Lindner H.R. 1961
Androgens and related compounds in the spermatoc
vein blood of domestic animals.
J. Endocrinol. 23, 139-159
- Lipsett M.B. & Tullner W.W. 1965
Testosterone synthesis by the fetal rabbit gonad.
Endocrinology 77, 273-277
- Lobotsky J. & Lloyd C.W. 1973
Variations in the concentrations of androstenedione
in peripheral plasma of women during the day and
during the menstrual cycle.
Steroids 22, 133-137
- Longcope Ch., Widrich W. and Sawin C.T. 1972
The secretion of estrone and estradiol-17 β by
human testis.
Steroids 20, 439-448
- Lox C.D., Christian C.D. and Heine M.W. 1974
A simple radioimmunoassay for testosterone.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 118, 114-118
- Maeda R., Okamoto M., Wegienka L.C. and Forsham P.H. 1969
A clinically useful method for plasma
testosterone determination.
Steroids 13, 83-98
- Mainwaring W.I.P. & Milroy E.J.G. 1973
Characterization of the specific androgen
receptors in the human prostate gland.
J. Endocrinol. 57, 371-384
- Mainwaring W.I.P. & Mangan F.R. 1973
A study of the androgen receptors in a variety
of androgen-sensitive tissues.
J. Endocrinol. 59, 121-139
- Mann T. 1964
The biochemistry of semen and of the male
reproductive tract.
Methuen & Co. Ltd. London

- Mann T. 1969
Physiology of semen and of the male
reproductive tract.
In: Reproduction in Domestic Animals, 277-312
2nd Ed. Cole H.H. & Cupps P.T.
Academic Press, New York & London
- Mann T., Rowson L.E.A., Baronos S. and Karagiannidis A. 1971
The androgenic potency of dihydrotestosterone in
the bull, and the effect of growth hormone on
the bovine seminal vesicle.
J. Endocrinol. 51, 707-718
- Mann T. 1972
Advances in male reproductive physiology.
Fert. Ster. 23, 699-707
- Marshall F.H.A. 1936
Sexual periodicity and the causes which determine it.
XI - The Croonian Lecture.
Phil. Trans. R. Soc. B 226, 423-456
- Martin R.P., Loriaus D.L. and Farnham G.S. 1965
Enterohepatic cycling of metabolized testosterone
in the male dog.
Steroids Suppl. II, 149-163
- Massa R., Stupnicka E., Kniewald Z. and Martini L. 1972
The transformation of testosterone into dihydro-
testosterone by the brain and the anterior pituitary.
J. Steroid Biochem. 3, 385-399
- Mathur R.S., Wqvist N. and Diczfalusy E. 1972
De novo synthesis of steroids and steroid sulphates
by the testicles of the human foetus at midgestation.
Acta endocrinol. 71, 792-800
- Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G., Arimura and
Schally A.V. 1971
Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone.
I. The proposed amino acid sequence.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 43, 1334

- Mayes D. & Nugent C.A. 1968
Determination of plasma testosterone by the
use of competitive protein binding.
J. Clin. Endocrinol. 28, 1169-1176
- McCann S.M. & Ramirez V.D. 1964
The neuroendocrine regulation of hypophyseal
luteinizing hormone secretion.
Rec. Prog. Horm. Res. 20, 131-181
- McDonald L.E. 1969
Veterinary Endocrinology and Reproduction.
Lea & Febiger, Philadelphia
- McMillan K.L. & Hafs H.D. 1969
Reproductive tract of holstein bulls from
birth through puberty.
J. Anim. Sci. 28, 233-239
- McMillin J.M., Seal U.S., Keenlyne K.D., Erickson A.W.
and Jones J.E. 1973
Annual testosterone rhythm in the adult white-tail
deer (*Odocoileus virginianus borealis*).
Endocrinology 94, 1034-1040
- Mercier C. 1966
Specificity of plasma testosterone-binding globulin.
2nd Internat. Congr. on Hormonal Steroids, Milan, Italy.
Excerpta Med. Intern. Congr. Ser. 111, 269
- Meusy-Desolle N. 1974
Evolution du taux de testostérone plasmatique au
cours de la vie foetale chez le Porc domestique.
C.R. Acad. Sc. Paris 278, 1257-1260
- Midgley A.R.Jr., Niswender G.D. and Sri Ram J. 1969
Hapten-radioimmunoassay: A general procedure for the
estimation of steroidal and other haptenic substances.
Steroids 13, 731-737

- Millar R.P. 1972
Reproduction in the Rock Hyrax (*Procavia capensis*)
with special reference to seasonal sexual activity.
Ph. D. Thesis, University of Liverpool, Liverpool
- Mittwoch U. 1967
Sex differentiation in mammals.
Nature 214, 554-556
- Mittwoch U. 1969
Do genes determine sex?
Nature 221, 446-448
- Molen H.J. van der 1964
Produktion und Metabolismus der Androgene.
Organorama (Organon) 4, 4-11
- Mongkonpunya K., Oxender W.D. and Hafs H.D. 1973
Serum and testicular androgens in bovine fetuses.
65 Annual Meeting of the Amer. Soc. Anim. Sci.
J. Anim. Sci. 37, 321
- Moon Y.S., Hardy M.H. and Raeside J. 1973
Biological evidence for androgen secretion by the
early fetal pig testes in organ culture.
Biol. Rep. 9, 330-337
- Moustgaard J. 1969
Nutritive influences upon reproduction.
In: Reproduction in Domestic Animals, 489-516
2nd Ed. Cole H.H. & Cupps P.T.
Academic Press, New York & London
- Murphy B.E.P., Engelberg W. and Pattee Ch. J. 1963
Simple method for the determination of plasma corticoids.
J. Clin. Endocr. Metab. 23, 293-300
- Murphy B.E.P. 1964
Application of the property of protein-binding to
the assay of minute quantities of hormones and
other substances.
Nature 201, 679-682

- Murphy B.E.P. and Pattee Ch.J. 1964
Determination of plasma corticoids by competitive protein-binding analysis using gel filtration.
J. Clin. Endocrinol. 24, 919-923
- Murphy B.E.P. 1967
Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurements of various steroids in body fluids by competitive protein-binding radio-assay.
J. Clin. Endocr. Metab. 27, 973-990
- Murphy B.E.P. 1971
"Sephadex" column chromatography as an adjunct to competitive protein binding assays of steroids.
Nature, New Biology 232, 21-24
- Mühlen A. von zur & Köbberling J. 1973
Effect of testosterone on the LH and FSH release induced by LH-releasing factor (LRF) in normal men.
Horm. Metab. Res. 5, 266-270
- Nalbandov A.V. 1964
Reproductive Physiology.
2nd Ed. W.H. Freeman and Co., San Francisco & London
- Neaves W.B. & Bramley P.S. 1972
Relationship between blood levels of testosterone and accessory sex gland weights in impala (*Aepyceros melampus*).
Comp. Biochem. Physiol. 42A, 983-987
- Neill I.D., Johanson E.D.B., Datta I.K. and Knobil E. 1967
Relationship between the plasma levels of luteinizing hormone and progesterone during the normal menstrual cycle.
J. Clin. Endocr. 27, 1167
- Neumann F. 1970
Die Bedeutung der Androgene für die Sexualdifferenzierung.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 83, 389-393

- Neumann F. & Steinbeck H. 1973
Androgene und Sexualtrieb des Mannes.
Sexualmedizin 7, 342-344
- Nieschlag E. & Loriaux D.L. 1972
Radioimmunoassay for plasma testosterone.
Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 10, 164-168
- Odeh W.D. & Moyer D.L. 1971
Physiology of Reproduction.
Ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis
- Ortavant R., Courot M. and Hochereau M.T. 1969
Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon.
In: Reproduction of Domestic Animals, 251-276
2nd Ed. Cole H.H. & Cupps P.T.
Academic Press, New York & London
- Pirke K.M. 1973
A comparison of three methods of measuring
testosterone in plasma: Competitive protein binding,
radioimmunoassay without chromatography and radio-
immunoassay including thin layer chromatography.
Acta endocrinol. 74, 168-176
- Piro C., Fraioli F., Sciarra F. and Conti C. 1973
Circadian rhythm of plasma testosterone, cortisol
and gonadotropins in normal male subjects.
J. Steroid Biochem. 4, 321-329
- Popa G.T. & Fiedling U. 1930
A portal circulation from the pituitary
to the hypothalamus.
J. Anat. (Lond.) 65, 88-91
- Ramírez D.V. & McCann S.M. 1963
Comparison of the regulation of luteinizing hormone
(LH) secretion in immature and adult rats.
Endocrinology 72, 452-464
- Rawlings N.C., Hafs H.D. & Swanson L.V. 1972
Testicular and blood plasma androgens in Holstein
bulls from birth through puberty.
J. Anim. Sci. 34, 435-440

- Resko J.A. & Phoenix C.H. 1972
Sexual behaviour and testosterone concentrations in the
plasma of the Rhesus monkey before and after castration.
Endocrinology 91, 499-503
- Resko J.A., Malley A., Begley D. & Hess D.L. 1973
Radioimmunoassay of testosterone during fetal
development of the Rhesus monkey.
Endocrinology 93, 156-161
- Rose R.M., Holaday J.W. & Bernstein I.S. 1971
Plasma testosterone, dominance rank and aggressive
behaviour in male Rhesus monkeys.
Nature 231, 366-368
- Rose R.M., Kreuz L.E., Holaday J.W., Sulak K.J. &
Johnson C.E. 1972
Diurnal variation of plasma testosterone and cortisol.
J. Endocrinol. 54, 177-178
- Sadleir R.M.F.S. 1972
Environmental effects.
In: Reproduction in Mammals,
Vol. 4 Reproductive Patterns, 69-93
Ed. C.R. Austin & R.V. Short, Cambridge University Press
- Savard K., Mason N.R., Ingram J.T. and Gassner F.X. 1961
The androgens of bovine spermatid venous blood.
Endocrinology 69, 324-330
- Schally A.V., Baba Y., Arimura A., Redding T.W. and
White W.F. 1971
Evidence for peptide nature of LH- and FSH-releasing
hormones.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 42, 50-56
- Schally A.V., Arimura A., Baba J., Nair R.M.C., Matsuo H.,
Redding T.W. and Debeljuk L. 1971
Isolation and properties of the FSH- and
LH-releasing hormone.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 43, 393

- Schams D. & Butz D. 1972
Plasma level of luteinizing hormone in female
and male calves from birth until puberty.
VII. Int. Congr. Anim. Rep. Art. Ins. München 3, 2175-2178
- Serra G.B., Pérez Palacios G. and Jaffe R.B. 1970
De novo testosterone biosynthesis in the
human fetal testis.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 30, 128-130
- Short R.V. & Hay M.F. 1964
Delayed implantation in the Roe deer.
J. Reprod. Fert. 9, 372-374
- Short R.V. & Mann T. 1966
The sexual cycle of seasonally breeding mammal,
The Roebuck (*Capreolus capreolus*).
J. Reprod. Fert. 12, 337-351
- Siiteri P.K. & Wilson J.D. 1974
Testosterone formation and metabolism during male
sexual differentiation in the human embryo.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 38, 113-125
- Smith O.W., Mongkonpunya K., Hafs H.D., Convey E.M.
and Oxender W.D. 1973
Blood serum testosterone after sexual preparation
or ejaculation, or after injections of LH or
prolactin in bulls.
J. Anim. Sci. 37, 979-984
- Smith O.W. & Hafs H.D. 1973
Competitive protein binding and radioimmunoassay
for testosterone in bulls and rabbits: Blood
serum testosterone after injection of LH or
prolactin in rabbits.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142, 804-810
- Snedecor G.W. 1956
Statistical Methods
5th Ed. Iowa State College Press, Ames, Iowa

- Stahl F., Poppe I., Stober B., Bindseil R. und Dörner G. 1972
Testosteronbestimmungen im Plasma und Fruchtwasser
mit Hilfe einer kompetitiven Protein-Bindungsmethode.
Endokrinologie 60, 322-328
- Strickland A.L., Apland M. & Bruton J. 1973
Determination of serum testosterone and androstenediol
by competitive protein binding.
Steroids 21, 27-46
- Struck H.J., Karg H. & Jork H. 1968
Extraktion und dünnenschicht-chromatographische
Bestimmung von Testosteron und Androstendion
aus Testesgewebe von Rinderföten.
J. Chromatography 36, 74
- Struck H.J. & Karg H. 1967
Bestimmung von Testosteron und Androstendion in
Rinderhoden während der Fetalzeit und der Geburt.
13. Symposium der Deutschen Gesellschaft für
Endokrinologie, Springer-Verlag Berlin, s. 138-140
- Sulcová J., Jirásek J.E. Stárka L. 1973
Transformation of testosterone into dihydrotestosterone
by the primordia of human genitalia and by the fetal
suprascapular skin.
Steroids and Lipids Res. 4, 129-134
- Swanson L.V., Wettemann R.P., Rawlings N.C., Hafs H.D.
and Magee W.T. 1971
Pubertal relationships of some endocrine and
reproductive criteria in Hereford bulls.
J. Anim. Sci. 33, 823-828
- Tachezy R. 1956
Über den Einfluß der Sexualhormone auf das
Geweihwachstum der Cerviden.
Säugetierkunde 4, 103-112
- Taylor T., Coutts J.R.T. & Macnaughton M.C. 1974
Human foetal synthesis of testosterone from
perfused progesterone.
J. Endocrinol. 60, 321-326

- Thompson R.G., Rodriguez A., Kowarski A., Migeon C.J.
& Blizzard R.M. 1972
Integrated concentrations of growth hormone
correlated with plasma testosterone and bone age
in preadolescent and adolescent males.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 35, 334-337
- Thornycraft I.A., Ribeiro W.O., Stone S.C. &
Tillson S.A. 1973
A radioimmunoassay of androstenedione.
Steroids 21, 111-122
- Tyler J.P.P., Hennem J.F., Newton J.R. and Collins W.P. 1973
Radioimmunoassay of plasma testosterone without
chromatography: A comparison of four antisera,
and the evaluation of a novel approach to
liquid scintillation counting.
Steroids 22, 871-889
- Velle W. 1963
Gonadal hormones in domestic animals.
In: Advances in Veterinary Science Vol. 8, 115-187
Ed. C.A. Brandly & E.L. Jungherr
Academic Press, New York & London
- Vermeulen A. & Verdonck L. 1972
Some studies on the biological significance
of testosterone.
J. Steroid Biochem. 3, 421-426
- Voss H.E. & Oertel G. 1973
Androgene I
Ed. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- Warren D.W., Haltmeyer G.C. & Eik-Nes K.B. 1972
Synthesis and metabolism of testosterone
in the fetal rat testis.
Biol. Rep. 7, 95-99

- Wilson J.D. & Walker J.D. 1969
The conversion of testosterone to 5 α -androstano-
17 β -ol-3-one (dihydrotestosterone) by skin
slices of man.
J. Clin. Invest. 48, 371-379
- Wilson J.D. & Siiteri P.K. 1973
Developmental pattern of testosterone synthesis
in the fetal gonad of the rabbit.
Endocrinology 92, 1182-1190
- Younglai E.V. & Lin C.C. 1973
Fetal androgen and human chorionic gonadotropin
excretion in relation to genetic sex.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 117, 291-292

7. T a b e l l e n a n h a n g

Tabelle I: Bulle "Kabine" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma mit Datum der Blutentnahmen von der Geburt bis zum 18. Lebensmonat.

Geburtsdatum: 27.10.1970

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
30.10.70	0.27	25. 1.71	0.72
2.11.70	0.12	27. 1.71	0.55
6.11.70	0.42	29. 1.71	0.75
9.11.70	0.35	1. 2.71	0.82
11.11.70	0.00	3. 2.71	0.77
13.11.70	0.10	5. 2.71	0.65
16.11.70	0.36	8. 2.71	0.25
18.11.70	0.25	10. 2.71	0.38
20.11.70	0.22	12. 2.71	0.60
23.11.70	0.20	15. 2.71	0.65
25.11.70	0.17	17. 2.71	0.46
27.11.70	0.24	19. 2.71	0.44
30.11.70	0.19	22. 2.71	0.20
2.12.70	0.0	24. 2.71	0.75
4.12.70	0.0	26. 2.71	0.73
7.12.70	0.16	1. 3.71	0.18
9.12.70	0.15	3. 3.71	0.56
11.12.70	0.62	5. 3.71	0.74
14.12.70	0.17	8. 3.71	0.35
16.12.70	0.58	10. 3.71	0.24
18.12.70	0.30	12. 3.71	0.55
21.12.70	0.25	15. 3.71	0.60
23.12.70	0.20	17. 3.71	1.60
25.12.70	0.24	19. 3.71	1.42
28.12.70	0.35	22. 3.71	0.22
30.12.70	0.15	24. 3.71	0.75
2. 1.71	0.21	26. 3.71	1.53
4. 1.71	0.16	29. 3.71	1.80
6. 1.71	0.45	31. 3.71	0.98
8. 1.71	0.53	2. 4.71	1.40
11. 1.71	0.70	5. 4.71	1.68
12. 1.71	0.27	7. 4.71	1.58
15. 1.71	0.27	9. 4.71	2.07
18. 1.71	0.80	12. 4.71	2.03
20. 1.71	0.70	13. 4.71	2.38
22. 1.71	0.65	16. 4.71	2.75

Fortsetzung Tabelle I

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
19. 4.71	2.70	4. 8.71	6.95
21. 4.71	0.42	6. 8.71	4.90
23. 4.71	0.55	9. 8.71	2.05
26. 4.71	1.05	11. 8.71	13.63
28. 4.71	0.60	13. 8.71	1.55
30. 4.71	0.33	16. 8.71	4.50
3. 5.71	3.90	18. 8.71	1.95
5. 5.71	0.58	20. 8.71	8.00
7. 5.71	0.53	23. 8.71	9.70
10. 5.71	2.55	25. 8.71	1.45
12. 5.71	3.10	27. 8.71	10.25
14. 5.71	4.50	30. 8.71	14.25
17. 5.71	5.30	1. 9.71	10.50
19. 5.71	4.20	3. 9.71	11.50
21. 5.71	0.55	8. 9.71	10.50
24. 5.71	1.80	10. 9.71	0.88
25. 5.71	5.95	13. 9.71	9.00
28. 5.71	5.15	15. 9.71	0.46
1. 6.71	1.58	17. 9.71	9.20
2. 6.71	3.40	20. 9.71	8.50
4. 6.71	1.93	22. 9.71	1.40
7. 6.71	0.50	24. 9.71	9.60
9. 6.71	6.80	27. 9.71	11.80
11. 6.71	0.56	29. 9.71	2.75
14. 6.71	1.75	1.10.71	2.20
16. 6.71	0.65	4.10.71	1.82
18. 6.71	7.70	6.10.71	6.70
21. 6.71	0.58	8.10.71	8.05
23. 6.71	0.88	11.10.71	2.58
25. 6.71	3.90	13.10.71	2.87
28. 6.71	6.30	15.10.71	7.10
30. 6.71	6.80	18.10.71	10.70
2. 7.71	7.50	20.10.71	6.10
5. 7.71	1.78	22.10.71	3.70
7. 7.71	4.10	25.10.71	1.45
9. 7.71	7.30	27.10.71	1.05
12. 7.71	4.70	29.10.71	8.05
14. 7.71	2.30	2.11.71	5.20
16. 7.71	0.65	3.11.71	3.60
19. 7.71	5.35	5.11.71	8.70
21. 7.71	5.15	8.11.71	5.90
23. 7.71	8.20	10.11.71	2.60
26. 7.71	5.80	12.11.71	2.60
28. 7.71	2.80	15.11.71	11.37
31. 7.71	7.10	17.11.71	12.75
2. 8.71	8.70	19.11.71	6.30

Fortsetzung Tabelle I

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
24.11.71	12.20	24. 1.72	11.50
26.11.71	16.70	26. 1.72	13.62
29.11.71	9.70	28. 1.72	3.00
1.12.71	13.37	1. 2.72	10.00
3.12.71	5.57	2. 2.72	14.75
6.12.71	11.00	4. 2.72	11.70
8.12.71	7.30	7. 2.72	14.75
10.12.71	12.37	9. 2.72	5.80
14.12.71	13.00	11. 2.72	7.10
15.12.71	11.75	14. 2.72	13.75
17.12.71	13.50	16. 2.72	12.00
20.12.71	13.08	18. 2.72	8.00
22.12.71	11.25	21. 2.72	13.75
24.12.71	15.50	23. 2.72	12.20
27.12.71	15.00	25. 2.72	15.60
29.12.71	11.50	28. 2.72	10.45
31.12.71	1.50	1. 3.72	7.87
3. 1.72	10.00	3. 3.72	16.50
5. 1.72	7.60	6. 3.72	10.62
7. 1.72	11.00	8. 3.72	11.87
10. 1.72	9.80	10. 3.72	8.10
12. 1.72	8.20	13. 3.72	14.30
17. 1.72	14.12	15. 3.72	4.57
19. 1.72	13.00	17. 3.72	8.32
21. 1.72	16.25		

Tabelle II: Bulle "Kaliro" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma mit Datum der Blutentnahmen von der Geburt bis zum 18. Lebensmonat.

Geburtsdatum: 11.11.1970

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
11.11.70	0.58	15. 2.71	0.34
13.11.70	0.22	17. 2.71	0.20
16.11.70	0.20	19. 2.71	0.23
18.11.70	0.18	22. 2.71	0.10
20.11.70	0.16	24. 2.71	0.16
23.11.70	0.16	26. 2.71	0.50
25.11.70	0.08	1. 3.71	0.68
27.11.70	0.46	3. 3.71	0.90
30.11.70	0.16	5. 3.71	0.05
2.12.70	0.35	8. 3.71	0.58
4.12.70	0.40	10. 3.71	0.67
7.12.70	0.28	12. 3.71	0.22
9.12.70	0.70	15. 3.71	0.18
11.12.70	0.30	17. 3.71	0.55
14.12.70	0.24	19. 3.71	0.35
16.12.70	0.30	22. 3.71	0.40
18.12.70	0.60	24. 3.71	0.40
21.12.70	0.27	26. 3.71	0.32
23.12.70	0.25	29. 3.71	0.32
25.12.70	0.67	31. 3.71	0.85
28.12.70	0.53	2. 4.71	0.60
30.12.70	0.35	5. 4.71	0.48
2. 1.71	0.34	7. 4.71	0.40
4. 1.71	0.30	9. 4.71	0.43
6. 1.71	0.10	12. 4.71	0.72
8. 1.71	0.23	13. 4.71	0.44
11. 1.71	0.45	19. 4.71	0.80
12. 1.71	0.05	21. 4.71	0.80
15. 1.71	0.05	23. 4.71	1.03
18. 1.71	0.15	26. 4.71	0.38
20. 1.71	0.75	28. 4.71	0.42
22. 1.71	0.22	30. 4.71	0.42
25. 1.71	0.10	3. 5.71	0.46
27. 1.71	0.90	5. 5.71	0.15
29. 1.71	0.30	7. 5.71	0.08
1. 2.71	0.18	10. 5.71	1.83
3. 2.71	0.27	12. 5.71	0.22
5. 2.71	0.10	14. 5.71	1.00
8. 2.71	0.10	17. 5.71	1.90
10. 2.71	0.20	19. 5.71	1.75
12. 2.71	0.23	21. 5.71	0.15

Fortsetzung Tabelle II

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
24. 5.71	1.62	1. 9.71	3.25
25. 5.71	1.77	3. 9.71	0.70
28. 5.71	3.05	6. 9.71	0.55
1. 6.71	0.52	8. 9.71	0.42
2. 6.71	0.35	10. 9.71	0.44
4. 6.71	0.35	13. 9.71	0.80
7. 6.71	0.18	15. 9.71	4.18
9. 6.71	0.62	17. 9.71	0.92
11. 6.71	1.52	20. 9.71	0.58
14. 6.71	0.13	22. 9.71	0.90
16. 6.71	0.38	25. 9.71	1.00
18. 6.71	0.58	27. 9.71	3.80
21. 6.71	0.32	29. 9.71	0.50
23. 6.71	0.34	1.10.71	0.82
25. 6.71	0.11	6.10.71	0.83
28. 6.71	0.12	8.10.71	1.15
30. 6.71	0.0	11.10.71	3.35
2. 7.71	0.10	13.10.71	4.45
5. 7.71	0.04	15.10.71	0.85
7. 7.71	0.19	18.10.71	0.42
9. 7.71	0.64	20.10.71	0.38
12. 7.71	0.35	22.10.71	0.58
14. 7.71	0.04	25.10.71	0.43
16. 7.71	0.20	27.10.71	0.70
19. 7.71	0.38	29.10.71	1.90
21. 7.71	0.47	1.11.71	5.40
23. 7.71	0.0	3.11.71	1.35
26. 7.71	0.05	5.11.71	2.08
28. 7.71	0.08	8.11.71	0.60
30. 7.71	0.85	10.11.71	1.30
2. 8.71	1.25	12.11.71	1.10
4. 8.71	1.44	15.11.71	6.00
6. 8.71	0.08	17.11.71	5.45
9. 8.71	1.32	19.11.71	4.80
11. 8.71	3.15	22.11.71	6.80
13. 8.71	3.80	24.11.71	3.25
16. 8.71	0.50	26.11.71	1.20
18. 8.71	0.47	29.11.71	1.18
20. 8.71	0.50	1.12.71	1.05
23. 8.71	0.58	3.12.71	0.83
25. 8.71	0.58	6.12.71	2.00
27. 8.71	0.30	8.12.71	1.18
30. 8.71	2.87	10.12.71	3.50

Fortsetzung Tabelle II

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
14.12.71	1.00	4. 2.72	1.70
15.12.71	1.33	7. 2.72	3.05
17.12.71	1.12	9. 2.72	2.25
20.12.71	12.75	11. 2.72	1.68
22.12.71	1.00	14. 2.72	14.50
24.12.71	0.75	16. 2.72	4.93
27.12.71	1.50	18. 2.72	3.45
29.12.71	2.00	21. 2.72	2.80
31.12.71	1.10	23. 2.72	2.30
3. 1.72	1.20	25. 2.72	1.88
5. 1.72	0.55	28. 2.72	1.20
7. 1.72	4.13	1. 3.72	2.30
10. 1.72	0.75	3. 3.72	6.37
12. 1.72	1.00	6. 3.72	6.50
14. 1.72	1.20	8. 3.72	5.50
17. 1.72	2.00	10. 3.72	4.60
19. 1.72	3.12	13. 3.72	1.62
21. 1.72	2.20	17. 3.72	2.50
24. 1.72	1.88	20. 3.72	1.83
26. 1.72	2.00	22. 3.72	5.75
28. 1.72	6.50	24. 3.72	1.50
1. 2.72	0.88	27. 3.72	0.88
2. 2.72	4.37	29. 3.72	1.95

Tabelle III: Bulle "Lado" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma mit Datum der Blutentnahmen von der Geburt bis zum 18. Lebensmonat.

Geburtsdatum: 8.7.1970

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
8. 7.70	1.37	7.10.70	0.55
10. 7.70	0.30	9.10.70	0.70
13. 7.70	0.04	12.10.70	0.23
15. 7.70	0.05	14.10.70	0.35
17. 7.70	0.40	16.10.70	0.70
20. 7.70	0.35	19.10.70	0.30
22. 7.70	0.10	21.10.70	0.77
24. 7.70	0.0	23.10.70	0.63
27. 7.70	0.22	26.10.70	0.53
29. 7.70	0.48	28.10.70	0.70
31. 7.70	0.30	30.10.70	0.50
3. 8.70	0.18	2.11.70	0.95
5. 8.70	0.30	6.11.70	0.80
7. 8.70	0.38	9.11.70	1.15
10. 8.70	0.58	11.11.70	1.20
12. 8.70	0.38	13.11.70	1.20
14. 8.70	0.27	16.11.70	1.28
17. 8.70	0.38	18.11.70	1.15
19. 8.70	0.36	20.11.70	0.75
21. 8.70	0.28	23.11.70	1.55
24. 8.70	0.18	25.11.70	0.56
26. 8.70	0.44	27.11.70	1.75
28. 8.70	0.20	30.11.70	1.65
31. 8.70	0.22	2.12.70	0.98
2. 9.70	0.10	4.12.70	2.00
4. 9.70	0.67	7.12.70	1.18
7. 9.70	0.98	9.12.70	1.78
9. 9.70	0.70	11.12.70	1.40
11. 9.70	0.70	14.12.70	0.90
14. 9.70	0.43	16.12.70	2.65
16. 9.70	0.50	18.12.70	3.58
18. 9.70	0.45	21.12.70	0.67
21. 9.70	0.25	23.12.70	4.90
23. 9.70	0.40	25.12.70	4.95
25. 9.70	0.44	28.12.70	0.80
28. 9.70	0.67	30.12.70	0.95
30. 9.70	0.75	2. 1.71	4.10
2.10.70	0.40	4. 1.71	6.20
5.10.70	0.30	6. 1.71	2.23

Fortsetzung Tabelle III

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
8. 1.71	0.82	23. 4.71	1.20
11. 1.71	7.10	26. 4.71	7.50
12. 1.71	0.90	28. 4.71	1.10
15. 1.71	6.00	30. 4.71	1.10
18. 1.71	9.20	2. 5.71	0.84
20. 1.71	0.95	5. 5.71	1.68
22. 1.71	0.53	7. 5.71	3.50
25. 1.71	0.90	10. 5.71	0.0
27. 1.71	6.10	12. 5.71	1.20
29. 1.71	6.40	14. 5.71	7.85
1. 2.71	6.20	17. 5.71	3.95
3. 2.71	0.95	19. 5.71	4.95
5. 2.71	0.58	21. 5.71	2.05
8. 2.71	0.53	24. 5.71	7.00
10. 2.71	0.40	25. 5.71	4.00
12. 2.71	0.70	28. 5.71	8.95
15. 2.71	5.55	1. 6.71	1.20
17. 2.71	1.60	2. 6.71	2.00
19. 2.71	1.20	4. 6.71	5.60
22. 2.71	1.55	7. 6.71	7.60
24. 2.71	1.05	9. 6.71	1.60
26. 2.71	0.50	11. 6.71	1.20
1. 3.71	5.45	14. 6.71	6.80
3. 3.71	1.33	16. 6.71	2.15
5. 3.71	0.48	18. 6.71	10.00
8. 3.71	0.50	21. 6.71	1.80
10. 3.71	1.10	23. 6.71	1.85
12. 3.71	0.85	28. 6.71	9.05
15. 3.71	3.60	30. 6.71	4.85
17. 3.71	3.55	2. 7.71	7.35
19. 3.71	0.62	5. 7.71	1.75
22. 3.71	3.50	7. 7.71	8.65
24. 3.71	0.50	9. 7.71	8.65
26. 3.71	0.73	12. 7.71	4.60
29. 3.71	1.58	14. 7.71	1.30
31. 3.71	2.40	16. 7.71	1.77
2. 4.71	1.70	19. 7.71	4.25
5. 4.71	0.80	21. 7.71	1.90
7. 4.71	0.65	23. 7.71	2.28
9. 4.71	0.90	26. 7.71	2.50
12. 4.71	6.70	28. 7.71	3.80
13. 4.71	1.00	31. 7.71	3.40
16. 4.71	0.95	2. 8.71	8.80
19. 4.71	4.75	4. 8.71	11.37
21. 4.71	1.15	6. 8.71	11.25

Fortsetzung Tabelle III

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
9. 8.71	2.40	6.10.71	7.20
11. 8.71	4.40	8.10.71	5.10
13. 8.71	2.70	11.10.71	7.30
16. 8.71	7.00	13.10.71	7.20
20. 8.71	9.60	15.10.71	6.70
23. 8.71	5.60	18.10.71	2.10
25. 8.71	6.15	20.10.71	7.50
27. 8.71	5.05	22.10.71	5.90
30. 8.71	2.75	25.10.71	2.00
1. 9.71	3.25	27.10.71	6.45
3. 9.71	6.60	29.10.71	7.75
8. 9.71	6.55	1.11.71	6.30
10. 9.71	4.60	3.11.71	7.75
13. 9.71	4.65	5.11.71	1.20
15. 9.71	9.40	8.11.71	1.20
17. 9.71	7.60	10.11.71	1.40
20. 9.71	7.60	12.11.71	1.55
22. 9.71	12.60	15.11.71	6.25
24. 9.71	7.60	17.11.71	2.55
27. 9.71	5.90	19.11.71	0.75
29. 9.71	6.30	22.11.71	1.72
1.10.71	6.10	24.11.71	5.35
4.10.71	3.80		

Tabelle IV: Bulle "Nydo" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma mit Datum der Blutentnahmen von der Geburt bis zum 18. Lebensmonat.

Geburtsdatum: 22.5.1970

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
25. 5.70	0.00	28. 8.70	0.45
27. 5.70	0.00	31. 8.70	0.45
29. 5.70	0.12	2. 9.70	0.20
1. 6.70	0.35	4. 9.70	0.45
3. 6.70	0.10	7. 9.70	0.40
5. 6.70	0.00	9. 9.70	0.65
8. 6.70	0.10	11. 9.70	0.75
10. 6.70	0.00	14. 9.70	0.75
12. 6.70	0.10	16. 9.70	0.90
15. 6.70	0.25	21. 9.70	1.00
17. 6.70	0.87	23. 9.70	1.05
19. 6.70	0.25	25. 9.70	0.75
22. 6.70	0.10	28. 9.70	0.80
24. 6.70	0.00	30. 9.70	0.95
26. 6.70	0.30	2.10.70	0.90
29. 6.70	0.30	5.10.70	1.20
1. 7.70	0.15	7.10.70	0.34
3. 7.70	0.25	9.10.70	0.40
6. 7.70	0.20	12.10.70	0.34
8. 7.70	0.40	14.10.70	0.45
10. 7.70	0.40	16.10.70	0.44
13. 7.70	0.35	19.10.70	0.32
15. 7.70	0.25	21.10.70	0.90
17. 7.70	0.10	23.10.70	0.80
20. 7.70	0.45	26.10.70	1.20
22. 7.70	0.35	28.10.70	0.55
24. 7.70	0.50	30.10.70	1.70
27. 7.70	0.00	2.11.70	2.70
29. 7.70	0.15	6.11.70	0.40
31. 7.70	0.40	9.11.70	1.20
3. 8.70	0.25	11.11.70	0.45
5. 8.70	0.80	13.11.70	0.40
7. 8.70	0.50	16.11.70	0.85
10. 8.70	0.60	18.11.70	1.80
12. 8.70	0.55	20.11.70	2.00
14. 8.70	0.25	23.11.70	0.50
17. 8.70	0.75	25.11.70	0.25
19. 8.70	0.45	27.11.70	2.35
21. 8.70	0.55	30.11.70	3.50
24. 8.70	0.75	2.12.70	1.60
26. 8.70	0.30	4.12.70	3.60

Fortsetzung Tabelle IV

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
7.12.70	1.80	19. 3.71	5.90
9.12.70	0.70	22. 3.71	5.65
11.12.70	0.50	24. 3.71	0.80
14.12.70	4.10	26. 3.71	1.10
16.12.70	1.15	29. 3.71	6.45
18.12.70	4.55	31. 3.71	3.25
21.12.70	0.80	2. 4.71	0.75
23.12.70	0.35	5. 4.71	5.30
25.12.70	0.55	7. 4.71	1.05
28.12.70	3.65	9. 4.71	7.50
30.12.70	5.20	12. 4.71	7.70
2. 1.71	5.60	13. 4.71	8.60
4. 1.71	5.25	16. 4.71	1.70
6. 1.71	0.75	19. 4.71	1.45
8. 1.71	1.45	21. 4.71	2.25
11. 1.71	4.10	23. 4.71	1.80
12. 1.71	2.00	26. 4.71	1.45
15. 1.71	0.20	28. 4.71	2.65
18. 1.71	5.35	30. 4.71	6.00
20. 1.71	2.90	3. 5.71	6.40
22. 1.71	1.45	5. 5.71	1.20
25. 1.71	6.50	7. 5.71	6.75
27. 1.71	0.80	10. 5.71	4.95
29. 1.71	1.10	12. 5.71	7.50
1. 2.71	6.30	14. 5.71	2.60
3. 2.71	6.85	21. 5.71	1.00
5. 2.71	7.55	24. 5.71	4.85
8. 2.71	4.95	25. 5.71	4.40
10. 2.71	0.85	28. 5.71	3.70
12. 2.71	5.45	1. 6.71	8.20
15. 2.71	6.10	2. 6.71	4.50
17. 2.71	0.40	4. 6.71	7.40
19. 2.71	5.45	7. 6.71	7.10
22. 2.71	5.40	9. 6.71	7.70
24. 2.71	0.95	11. 6.71	7.30
26. 2.71	4.90	14. 6.71	7.40
1. 3.71	4.25	16. 6.71	7.60
3. 3.71	4.70	18. 6.71	4.20
5. 3.71	6.40	21. 6.71	7.10
8. 3.71	5.70	23. 6.71	7.65
10. 3.71	1.10	25. 6.71	4.60
12. 3.71	3.15	28. 6.71	5.50
15. 3.71	1.20	30. 6.71	6.35
17. 3.71	4.15	2. 7.71	9.10

Fortsetzung Tabelle IV

Datum	ng Testosteron/ ml Plasma	Datum	ng Testosteron/ ml Plasma
5. 7.71	8.90	23. 8.71	7.90
7. 7.71	9.00	25. 8.71	7.90
9. 7.71	9.60	27. 8.71	4.20
12. 7.71	10.00	30. 8.71	19.88
14. 7.71	4.95	1. 9.71	18.12
16. 7.71	0.35	3. 9.71	7.80
19. 7.71	18.00	6. 9.71	18.63
21. 7.71	9.40	8. 9.71	17.20
23. 7.71	8.80	10. 9.71	6.05
26. 7.71	20.20	13. 9.71	9.80
28. 7.71	3.80	15. 9.71	9.80
30. 7.71	6.80	17. 9.71	9.10
2. 8.71	10.00	20. 9.71	10.00
4. 8.71	7.50	22. 9.71	10.00
6. 8.71	2.15	24. 9.71	7.65
9. 8.71	21.37	27. 9.71	19.02
11. 8.71	10.00	29. 9.71	7.60
13. 8.71	5.50	1.10.71	9.80
16. 8.71	8.20	4.10.71	8.50
20. 8.71	6.70	6.10.71	5.60

Tabelle V: Bulle "Kabine" - Berechnete Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der jeweils in 3 Wochen gemessenen Testosteronkonzentrationen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche.

Lebens- woche	n	ng Testosteron/ ml Plasma		
		$\bar{x}$	S	VK %
1- 3	7	0.23	0.14	60.0
4- 6	9	0.15	0.09	59.0
7- 9	9	0.31	0.14	45.0
10-12	9	0.39	0.22	56.0
13-15	9	0.65	0.14	21.0
16-18	9	0.48	0.20	41.0
19-21	9	0.69	0.48	69.0
22-24	9	1.53	0.44	28.0
25-27	9	1.63	1.31	80.0
28-30	9	2.56	1.83	71.0
31-33	9	3.06	2.37	77.0
34-36	9	4.01	3.09	77.0
37-39	9	4.83	2.33	48.0
40-42	9	5.79	3.81	65.0
43-45	8	8.45	4.52	53.0
46-48	9	6.81	4.53	66.0
49-51	9	4.97	3.21	64.0
52-54	9	4.86	2.66	54.0
55-57	8	9.27	5.05	54.0
58-60	9	11.23	2.82	25.0
61-63	9	10.35	4.13	39.0
64-66	8	11.21	4.15	37.0
67-69	9	11.28	3.46	30.0
70-72	9	11.94	3.07	25.0
1-21	61	0.42	0.30	63.9

Tabelle VI: Bulle "Kaliro" - Berechnete Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der jeweils in 3 Wochen gemessenen Testosteronkonzentrationen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche.

Lebens- woche	n	ng Testosteron/ ml Plasma		VK %
		$\bar{x}$	S	
1- 3	9	0.24	0.14	58.0
4- 6	9	0.38	0.14	36.0
7- 9	10	0.32	0.17	53.0
10-12	8	0.33	0.30	90.0
13-15	9	0.19	0.07	39.2
16-18	9	0.43	0.29	67.0
19-21	9	0.47	0.17	35.8
22-24	8	0.62	0.24	38.7
25-27	9	0.72	0.70	97.2
28-30	9	1.08	1.00	93.0
31-33	9	0.45	0.43	96.0
34-36	9	0.21	0.20	96.2
37-39	9	0.61	0.60	98.2
40-42	9	1.41	1.41	99.9
43-45	9	1.31	1.38	105.6
46-48	8	1.54	1.27	82.5
49-51	9	1.67	1.91	113.9
52-54	9	3.27	2.44	74.6
55-57	9	1.68	1.01	59.9
58-60	9	2.52	3.48	152.3
61-63	9	1.87	1.17	62.6
64-66	9	4.10	4.25	103.7
67-69	9	3.52	1.95	55.4
70-72	9	2.90	1.85	64.0
1-21	63	0.34	0.21	71.5

Tabelle VII: Bulle "Lado" - Berechnete Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der jeweils in 3 Wochen gemessenen Testosteronkonzentrationen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche.

Lebens- woche	n	ng Testosteron/ ml Plasma		
		$\bar{x}$	S	VK %
1- 3	9	0.31	0.42	133.7
4- 6	9	0.36	0.11	31.5
7- 9	10	0.41	0.28	68.2
10-12	9	0.51	0.61	31.5
13-15	9	0.47	0.20	42.7
16-18	8	0.80	0.26	33.2
19-21	9	1.20	0.40	33.3
22-24	9	2.11	1.38	65.2
25-27	9	3.11	2.51	80.8
28-30	9	4.13	3.28	79.3
31-33	9	1.46	1.59	109.0
34-36	9	1.92	1.81	93.8
37-39	9	1.38	1.01	73.5
40-42	9	2.80	2.72	97.2
43-45	9	2.78	2.50	90.0
46-48	9	4.44	2.92	65.9
49-51	8	4.71	3.52	74.7
52-54	9	4.46	3.05	68.3
55-57	9	5.57	3.80	68.2
58-60	8	6.51	3.31	50.9
61-63	8	7.45	2.61	35.0
64-66	9	6.27	1.23	19.6
67-69	9	5.82	2.24	38.4
70-72	9	2.44	1.97	81.0
1-21	63	0.57	0.40	69.6

Tabelle VIII: Bulle "Nydo" - Berechnete Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der jeweils in 3 Wochen gemessenen Testosteronkonzentrationen von der Geburt bis zur 72. Lebenswoche.

Lebens- woche	n	ng Testosteron/ ml Plasma		
		$\bar{x}$	S	VK %
1- 3	8	0.11	0.12	30.0
4- 6	9	0.25	0.25	97.5
7- 9	9	0.30	0.11	37.0
10-12	9	0.41	0.24	59.1
13-15	9	0.46	0.19	42.9
16-18	7	0.74	0.25	34.6
19-21	9	0.68	0.31	45.6
22-24	8	1.07	0.79	73.6
25-27	9	0.87	0.65	74.6
28-30	9	2.14	1.32	61.7
31-33	9	2.96	2.30	77.6
34-36	9	2.75	2.14	78.1
37-39	9	4.39	2.81	64.0
40-42	9	4.31	1.96	45.5
43-45	9	3.51	2.18	62.0
46-48	9	4.03	3.21	79.8
49-51	9	4.30	2.51	58.5
52-54	7	4.17	2.22	53.1
55-57	9	7.05	1.09	25.7
58-60	9	7.55	2.16	28.7
61-63	9	9.42	6.27	66.5
64-66	8	8.71	5.61	64.4
67-69	9	12.38	6.04	48.8
70-72	9	1.95	0.36	38.4
1-21	61	0.42	0.30	71.1

Tabelle IX: Bullen "Kabine" "Kalibro" "Lado" "Nydo" -
Statistischer Vergleich der Testosteron-
konzentrationen bestimmter Untersuchungsperioden^o

Lebenswoche	1-21 gegen	28-30	1-21 gegen	52-54	1-21 gegen	67-69
Bulle	f	t	f	t	f	t
Kabine	68	11.31 +	68	13.02 +	68	24.94 +
Kalibro	70	5.31 +	70	9.69 +	70	12.97 +
Lado	70	8.35 +	70	9.94 +	70	17.43 +
Nydo	68	9.04 +	66	12.92 +	68	16.02 +

^o Die zugehörigen Werte sind aus den Tabellen V, VI, VII und VIII ersichtlich.

+ P < 0.001

Tabelle X: Androstendionkonzentrationen in stichartigen Proben vom peripheren Blutplasma bei 4 Bullen von der Geburt bis zum 12. Lebensmonat.

Bulle Kabine

Geburtsdatum: 27.10.70

Datum	ng Androstendion/ ml Plasma	Datum	ng Androstendion/ ml Plasma
30.10.70	0.00	9. 6.71	0.00
2.11.70	0.00	11. 6.71	0.00
6.11.70	0.00	14. 6.71	0.30
9.11.70	0.00	16. 6.71	0.25
11.11.70	0.00	18. 6.71	0.24
13.11.70	0.00	21. 6.71	0.24
16.11.70	0.00	23. 6.71	0.00
18.11.70	0.00	25. 6.71	0.12
20.11.70	0.00	28. 6.71	0.29
23.11.70	0.00	30. 6.71	0.09
25.11.70	0.21	2. 7.71	0.09
27.11.70	0.27	5. 7.71	0.35
30.11.70	0.00	7. 7.71	0.29
2.12.70	0.00	9. 7.71	0.06
4.12.70	0.00	12. 7.71	0.07
9.12.70	0.07	14. 7.71	0.00
30.12.70	0.24	16. 7.71	0.18
20. 1.71	0.52	19. 7.71	0.28
3. 2.71	0.38	21. 7.71	0.32
17. 2.71	0.70	23. 7.71	0.00
5. 3.71	0.28	26. 7.71	0.14
22. 3.71	0.48	28. 7.71	0.09
7. 4.71	0.24	31. 7.71	0.18
23. 4.71	0.16	6. 8.71	0.23
5. 5.71	0.00	13. 8.71	0.17
21. 5.71	0.16	20. 8.71	0.17
24. 5.71	0.00	25. 8.71	0.20
25. 5.71	0.27	1. 9.71	0.11
28. 5.71	0.00	13. 9.71	0.16
1. 6.71	0.20	20. 9.71	0.00
2. 6.71	0.25	6.10.71	0.00
4. 6.71	0.00	22.10.71	0.00
7. 6.71	0.00		

Fortsetzung Tabelle X

Bulle Kaliro
Geburtsdatum: 11.11.70

Bulle Lado
Geburtsdatum: 8.7.70

Datum	ng Androstendion/ ml Plasma	Datum	ng Androstendion/ ml Plasma
11.11.70	0.26	8. 7.70	0.75
30.11.70	0.12	20. 7.70	0.45
14.11.70	0.00	7. 8.70	0.56
29. 3.71	0.14	25.11.70	0.62
12. 4.71	0.73	7.12.70	0.67
19. 7.71	0.09	15. 3.71	0.57
16. 8.71	0.07	12. 4.71	0.61
13. 9.71	0.00	10. 5.71	0.75
6.10.71	0.00	1. 6.71	0.63
27.10.71	0.00	21. 6.71	0.64

Bulle Nydo
Geburtsdatum: 22.5.70

Datum	ng Androstendion/ ml Plasma
25. 5.70	0.53
10. 6.70	0.32
24. 6.70	0.00
7.10.70	0.00
21.10.70	0.00
27. 1.71	0.28
22. 2.71	0.32
24. 3.71	0.16
13. 4.71	0.17
5. 5.71	0.00

Tabelle XI: Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 8 Stunden bei zwei 4 Wochen alten Kälbern.

Kalb Kaiser		Kalb Kasper	
Datum: 11.4.73		Datum: 10.7.73	
Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
8:35	0.10	8:00	0.56
8:50	0.08	8:15	0.52
9:05	0.00	8:45	0.46
9:20	0.00	9:00	0.46
9:35	0.20	9:15	0.49
9:50	0.00	9:30	0.42
10:05	0.12	9:45	0.56
10:20	0.06	10:00	0.44
10:35	0.10	10:15	0.28
10:50	0.00	10:30	0.26
11:05	0.06	10:45	0.19
11:20	0.00	11:00	0.19
11:35	0.14	11:15	0.14
11:50	0.10	11:30	0.00
12:05	0.14	11:45	0.14
12:20	0.04	12:00	0.00
12:35	0.00	12:15	0.10
12:50	0.14	12:30	0.08
13:05	0.14	12:45	0.08
13:20	0.22	13:00	0.10
13:35	0.16	13:15	0.20
13:50	0.08	13:30	0.28
14:05	0.00	13:45	0.16
14:20	0.04	14:00	0.48
14:35	0.20	14:15	0.40
14:50	0.04	14:30	0.49
15:05	0.10	15:00	0.46
15:20	0.46	15:15	0.40
15:35	0.48	15:30	0.42
15:50	0.40	16:00	0.36
16:05	0.68		
16:20	0.66		

Tabelle XII: Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 8 Stunden bei zwei 8 Wochen alten Kälbern.

Kalb Kaiser		Kalb Zar	
Datum: 11.5.73		Datum: 19.12.73	
Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
6:00	0.22	7:30	0.41
6:15	0.29	7:45	0.48
6:30	0.00	8:00	0.50
6:45	0.18	8:15	0.50
7:00	0.24	8:30	0.45
7:15	0.05	8:45	0.42
7:30	0.20	9:00	0.34
7:45	0.28	9:15	0.42
8:00	0.12	9:30	0.17
8:15	0.54	9:45	0.40
8:30	0.37	10:00	0.38
8:45	0.12	10:15	0.34
9:00	0.23	10:30	0.45
9:15	0.08	10:45	0.48
9:30	0.26	11:00	0.41
9:45	0.20	11:15	0.45
10:00	0.29	11:30	0.45
10:15	0.00	11:45	0.46
10:30	0.10	12:00	0.55
10:45	0.00	12:15	0.53
11:00	0.00	12:30	0.48
11:15	0.09	12:45	0.47
11:30	0.17	13:00	0.50
11:45	0.00	13:15	0.50
12:00	0.00	13:30	0.58
12:15	0.00	13:45	0.50
12:30	0.00	14:00	0.44
12:45	0.22	14:15	0.46
13:00	0.15	14:30	0.47
13:15	0.42	14:45	0.49
13:30	0.56	15:00	0.52
13:45	0.84	15:15	0.56
		15:30	0.49

Tabelle XIII: Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 8 Stunden bei zwei 20 Wochen alten Kälbern.

Kalb Kaiser		Kalb Gerd	
Datum: 31.7.73		Datum: 18.4.73	
Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
8:00	0.68	8:15	2.68
8:15	0.22	8:30	4.00
8:30	0.52	8:45	5.73
8:45	0.54	9:00	5.69
9:00	0.35	9:15	5.47
9:15	0.44	9:30	4.23
9:30	0.34	9:45	3.24
9:45	0.38	10:00	2.13
10:00	0.38	10:15	1.62
10:15	0.36	10:30	1.09
10:30	0.35	10:45	0.73
10:45	0.30	11:00	0.52
11:00	0.31	11:15	0.47
11:15	0.40	11:30	0.32
11:30	0.22	11:45	0.50
11:45	0.16	12:00	0.39
12:00	0.24	12:15	0.47
12:15	0.29	12:30	0.07
12:30	0.40	12:45	0.22
12:45	0.38	13:00	0.47
13:00	0.29	13:15	0.54
13:15	0.21	13:30	0.57
13:30	0.45	13:45	1.29
13:45	0.44	14:00	3.14
14:00	0.36	14:15	5.02
14:15	0.34	14:30	5.85
14:30	0.39	14:45	6.61
14:45	0.43	15:00	6.79
15:00	0.42	15:15	6.63
15:15	0.45	15:30	6.32
15:30	0.64	16:00	6.10
15:45	0.57	16:15	4.39
16:00	0.50		

Tabelle XIV: Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 8 Stunden bei zwei 40 Wochen alten Bullen.

Bulle Gerd		Bulle Gilch	
Datum: 21.8.73		Datum: 21.8.73	
Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
7:30	5.23	7:30	6.32
7:45	5.25	7:45	7.22
8:00	4.71	8:00	5.16
8:15	4.88	8:15	5.21
8:30	6.39	8:30	4.26
8:45	7.25	8:45	6.19
9:00	7.82	9:00	6.20
9:15	7.63	9:15	5.25
9:30	7.24	9:30	4.16
9:45	7.10	9:45	2.55
10:00	6.31	10:00	2.48
10:15	5.26	10:15	1.69
10:30	4.29	10:30	1.44
10:45	2.81	10:45	1.00
11:00	2.35	11:00	1.19
11:15	1.77	11:15	1.15
11:30	1.24	11:30	1.01
11:45	1.21	11:45	0.95
12:00	1.10	12:00	1.54
12:15	1.53	12:15	2.28
12:30	1.25	12:30	2.36
12:45	1.14	12:45	5.10
13:00	1.10	13:00	5.79
13:15	1.02	13:15	8.05
13:30	0.88	13:30	9.00
13:45	1.03	13:45	9.15
14:00	1.07	14:00	8.23
14:15	3.69	14:15	8.20
14:30	6.39	14:30	8.85
14:45	7.30	14:45	7.80
15:00	7.56	15:00	7.70
15:15	7.73	15:15	7.16
15:30	7.90	15:30	6.76

Tabelle XV: Bulle "Gilch" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 48 Stunden im Alter von 14 Monaten.

Geburtsdatum: 30.10.72 Versuchsdatum: 15./16./17.1.74

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
9:00	7.10	19:15	9.50
9:15	10.00	19:30	9.62
9:30	10.00	19:45	8.87
9:45	9.75	20:00	9.50
10:00	8.40	20:15	10.00
10:15	6.80	20:30	11.50
10:30	4.85	20:45	10.50
10:45	3.50	21:00	8.87
11:00	2.80	21:15	9.62
11:15	2.25	21:30	11.30
11:30	2.15	21:45	11.12
11:45	1.62	22:00	11.50
12:00	1.55	22:15	10.75
12:15	1.55	22:30	10.50
12:30	1.35	22:45	9.70
12:45	1.30	23:00	14.00
13:00	1.40	23:15	12.87
13:15	1.35	23:30	11.87
13:30	1.45	23:45	6.50
13:45	1.45	24:00	8.00
14:00	1.20	0:15	10.12
14:15	1.40	0:30	11.62
14:30	1.45	0:45	12.00
14:45	4.50	1:00	11.87
15:00	8.20	1:15	11.60
15:15	12.60	1:30	9.37
15:30	13.25	1:45	9.12
15:45	14.50	2:00	5.25
16:00	12.60	2:15	5.00
16:15	13.00	2:30	9.87
16:30	12.75	2:45	13.62
16:45	14.00	3:00	15.87
17:00	12.50	3:15	15.50
17:15	10.50	3:30	12.87
17:30	9.87	3:45	8.75
17:45	8.37	4:00	5.87
18:00	7.00	4:15	4.50
18:15	5.25	4:30	3.75
18:30	3.87	4:45	3.25
18:45	3.25	5:00	2.00
19:00	3.62	5:15	1.87

Fortsetzung Tabelle XV

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
5:30	2.00	16:15	14.50
5:45	2.12	16:30	13.50
6:00	2.12	16:45	14.62
6:15	2.00	17:00	16.25
6:30	2.00	17:15	14.12
6:45	1.62	17:30	13.00
7:00	1.50	17:45	9.00
7:15	1.25	18:00	6.12
7:30	1.37	18:15	3.87
7:45	1.75	18:30	3.62
8:00	1.37	18:45	5.37
8:15	1.50	19:00	14.75
8:30	1.37	19:15	12.38
8:45	1.75	19:30	13.75
9:00	1.25	19:45	13.50
9:15	2.25	20:00	10.87
9:30	11.12	20:15	9.25
9:45	9.80	20:30	5.62
10:00	12.00	20:45	6.13
10:15	12.67	21:00	3.75
10:30	14.37	21:15	3.00
10:45	17.00	21:30	2.50
11:00	14.25	21:45	2.25
11:15	7.37	22:00	1.65
11:30	5.37	22:15	1.65
11:45	6.62	22:30	1.75
12:00	5.87	22:45	1.43
12:15	5.25	23:00	1.55
12:30	5.12	23:15	1.65
12:45	11.30	23:30	1.50
13:00	10.12	23:45	1.50
13:15	7.37	24:00	5.25
13:30	6.00	0:15	9.75
13:45	4.12	0:30	17.00
14:00	3.67	0:45	17.85
14:15	3.25	1:00	17.25
14:30	3.00	1:15	17.75
14:45	2.37	1:30	14.50
15:00	4.00	1:45	13.40
15:15	7.75	2:00	12.00
15:30	10.00	2:15	8.63
15:45	8.67	2:30	5.25
16:00	7.00	2:45	4.00

Fortsetzung Tabelle XV

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
3:00	3.00	6:15	1.67
3:15	2.87	6:30	1.30
3:30	2.75	6:45	1.25
3:45	2.75	7:00	0.75
4:00	1.75	7:15	1.37
4:15	1.68	7:30	1.12
4:30	1.60	7:45	1.25
4:45	1.93	8:00	1.00
5:00	1.43	8:15	1.80
5:15	1.75	8:30	9.00
5:30	1.25	8:45	10.75
5:45	1.12	9:00	13.50
6:00	1.50		

Tabelle XVI: Bulle "Kaliro" - Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 32 Stunden im Alter von 34 Monaten.

Geburtsdatum: 11.11.70

Versuchsdatum: 27./28.9.73

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
7:30	3.50	16:45	6.20
7:45	3.30	17:00	5.00
8:00	4.00	17:15	4.70
8:15	4.50	17:30	3.90
8:30	4.70	17:45	3.20
8:45	5.70	18:00	3.90
9:00	6.60	18:15	3.10
9:15	7.20	18:30	2.50
9:30	6.60	18:45	2.50
9:45	7.50	19:00	2.20
10:00	5.70	19:15	2.00
10:15	4.20	19:30	1.60
10:30	3.60	19:45	1.40
10:45	3.60	20:00	1.20
11:00	2.60	20:15	2.50
11:15	2.00	20:30	2.75
11:30	2.20	20:45	4.50
11:45	1.50	21:00	4.40
12:00	1.20	21:15	4.60
12:15	1.50	21:30	5.50
12:30	0.87	21:45	6.30
12:45	1.00	22:00	6.60
13:00	1.10	22:15	7.60
13:15	1.00	22:30	6.30
13:30	1.65	22:45	5.90
13:45	3.10	23:00	5.20
14:00	2.00	23:15	4.90
14:15	1.80	23:30	5.60
14:30	1.30	23:45	5.40
14:45	1.20	24:00	5.20
15:00	2.10	0:15	5.00
15:15	4.70	0:30	4.50
15:30	5.60	0:45	4.10
15:45	5.80	1:00	3.20
16:00	7.50	1:15	3.30
16:15	6.10	1:30	2.25
16:30	7.00	1:45	2.12

Fortsetzung Tabelle XVI

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma	Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
2:00	1.75	9:15	2.50
2:15	1.65	9:30	2.15
2:30	1.75	9:45	2.00
2:45	2.10	10:00	1.80
3:00	1.90	10:15	1.65
3:15	2.50	10:30	1.60
3:30	2.90	10:45	1.40
3:45	3.00	11:00	1.15
4:00	2.80	11:15	1.00
4:15	2.65	11:30	1.00
4:30	2.30	11:45	1.25
4:45	2.55	12:00	1.25
5:00	2.60	12:15	1.40
5:15	7.30	12:30	1.65
5:30	3.60	12:45	1.55
5:45	5.35	13:00	1.65
6:00	6.10	13:15	1.50
6:15	7.40	13:30	1.60
6:30	7.20	13:45	1.50
7:30	2.35	14:00	1.80
7:45	2.45	14:15	2.10
8:00	2.35	14:30	3.60
8:15	2.65	14:45	1.55
8:30	2.50	15:00	4.00
8:45	2.25	15:15	4.90
9:00	2.30	15:30	5.05

Tabelle XVII: Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma sowie Datum der Blutentnahmen über eine Zeitperiode von 19 Monaten bei einer Gruppe von 8 Rehböcken.

Datum	ng Testosteron/ml Plasma Rehbock Nr.			
	16	23	26	50
22. 2.73	2.05	0.82	-	0.42
13. 3.73	1.25	0.37	-	1.08
3. 4.73	3.10	2.78	3.48	-
24. 4.73	-	7.51	2.60	-
15. 5.73	3.50	4.96	1.67	4.61
5. 6.73	2.78	3.82	3.45	1.30
26. 6.73	3.68	2.87	5.80	3.68
17. 7.73	3.80	4.74	5.00	5.74
7. 8.73	2.65	2.65	5.70	1.45
28. 8.73	1.50	2.10	1.20	2.30
18. 9.73	0.95	1.85	1.35	1.85
9.10.73	1.70	1.30	0.60	0.87
30.10.73	0.35	0.75	0.90	0.82
20.11.73	0.70	0.90	0.50	0.50
11.12.73	0.35	0.22	0.28	0.18
22. 1.74	0.37	0.21	0.51	0.61
19. 2.74	5.62	3.97	4.56	3.20
12. 3.74	2.22	5.90	7.05	6.71
2. 4.74	6.15	+	5.90	5.25
24. 4.74	3.28		5.17	5.04
14. 5.74	3.50		4.80	5.50
4. 6.74	1.90		0.65	1.70
25. 6.74	1.75		3.10	3.00
23. 7.74	3.35		2.80	5.60
26. 8.74	1.55		0.25	1.05
10. 9.74	0.35		0.30	0.45

+
Gestorben

Fortsetzung Tabelle XVII

Datum	ng Testosteron/ml Plasma Rehbock Nr.			
	83	90	91	92
22. 2.73	-	-	-	0.12
13. 3.73	0.33	0.24	1.37	1.32
3. 4.73	-	2.18	-	6.82
24. 4.73	2.52	3.31	2.92	1.65
15. 5.73	2.50	2.03	2.34	1.56
5. 6.73	1.46	0.88	3.39	1.29
26. 6.73	2.37	1.06	1.24	3.87
17. 7.73	3.61	4.93	0.74	5.30
7. 8.73	0.80	13.50	2.35	4.80
28. 8.73	2.25	1.00	3.30	1.60
18. 9.73	2.20	1.50	1.75	1.50
9.10.73	1.75	0.80	1.50	0.80
30.10.73	0.95	0.25	0.40	1.25
20.11.73	1.35	0.40	0.65	0.25
11.12.73	0.50	0.33	0.47	0.41
22. 1.74	0.25	0.47	0.55	0.20
19. 2.74	0.68	3.68	7.47	1.73
12. 3.74	8.19	6.70	7.15	4.00
2. 4.74	9.10	6.30	6.20	6.30
25. 4.74	4.22	3.59	5.45	2.93
14. 5.74	5.50	5.18	5.10	4.17
4. 6.74	1.20	1.90	2.25	1.05
25. 6.74	3.70	2.15	2.10	2.30
23. 7.74	3.00	5.20	3.00	3.00
26. 8.74	0.70	0.30	0.80	0.70
10. 9.74	0.30	0.35	0.65	0.45

Tabelle XVIII: Berechnete Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der Testosteronkonzentrationen im peripheren Blutplasma über eine Zeitperiode von 19 Monaten bei einer Gruppe von 8 Rehböcken.

Datum	n	ng Testosteron/ ml Plasma		
		$\bar{x}$	S	VK %
22. 2.73	4	0.85	0.84	99.4
13. 3.73	7	0.85	0.51	60.0
3. 4.73	5	3.67	1.82	99.6
24. 4.73	6	3.41	2.07	60.7
15. 5.73	8	2.89	1.31	45.3
5. 6.73	8	2.29	1.18	51.4
26. 6.73	8	3.07	1.54	50.3
17. 7.73	8	4.23	1.58	37.3
7. 8.73	8	4.23	4.07	96.2
28. 8.73	8	1.90	0.74	38.8
18. 9.73	8	1.61	0.38	23.4
9.10.73	8	1.16	0.45	38.7
30.10.73	8	0.70	0.34	48.5
20.11.73	8	0.65	0.34	52.1
11.12.73	8	0.34	0.11	33.2
22. 1.74	8	0.39	0.14	35.0
19. 2.74	8	3.86	2.13	55.0
12. 3.74	8	5.99	1.94	32.0
2. 4.74	7	6.45	1.24	19.0
25. 4.74	7	4.24	1.00	23.6
14. 5.74	7	4.59	0.74	16.2
4. 6.74	7	1.52	0.56	37.3
25. 6.74	7	2.58	0.69	26.8
23. 7.74	7	3.70	1.17	31.6
26. 8.74	7	0.76	0.44	58.2
10. 9.74	7	0.40	0.12	30.4

Tabelle XIX: Rehbock-Gruppe - Statistischer Vergleich der Testosteronkonzentrationen bestimmter Untersuchungs-Tage⁺.

Datum	f	t	P
13.3.73 gegen 24.4.73	11	3.18	<0.01
5.6.73 " 17.7.73	14	2.78	<0.02
22.1.74 " 19.2.74	14	4.59	<0.001
4.6.74 " 23.7.74	12	4.44	<0.001

⁺ Die zugehörigen Werte sind aus der Tabelle XVIII ersichtlich

Tabelle XX: Rehbock Nr. 50 - Testosteronkonzentrationen
im peripheren Blutplasma sowie Uhrzeiten
der Blutentnahmen über eine Zeitperiode
von 13 Stunden am 2.4.1974.

Uhrzeit	ng Testosteron/ ml Plasma
6:15	5.25
7:15	4.20
8:15	2.70
9:15	2.15
10:15	4.15
11:15	5.65
12:15	4.70
13:15	6.10
14:15	4.70
15:15	3.80
16:15	2.60
17:15	1.40
18:15	1.60

Herrn Professor Dr. Heinrich Karg möchte ich für die Überlassung des Themas, seine wissenschaftlichen Anregungen sowie für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut meinen besonderen Dank sagen.

Ebenso danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Bernd Hoffmann für die methodische Einarbeitung und die zahlreichen Ratschläge und Diskussionen.

Bei Herrn Dr. Rolf Claus möchte ich mich für zahlreiche Ratschläge bedanken.

L e b e n s l a u f

Tomás Giménez N. geb. 24. 5. 1946 in Mexico City,
als Sohn des Verlegers Rafael Giménez
und seiner Ehefrau Francisca Navarro
de Giménez.

Schulbildung 1952-1958 Primary School
 (Mexico City School)
 1959-1961 Secondary School (Escuela
 Secundaria de la Ciudad de México)
 1962-1963 Preparatory School (Univer-
 sidad Militar Latino Americana).

Universitäts- 1964-1968 an der Universidad Nacional
studium Autónoma de México (Facultad de
 Medicina Veterinaria y Zootecnia)
 1969 Abschluß mit dem Titel:
 Médico Veterinario Zootecnista.

In der Zeit von Januar 1968 bis Dezember 1970 arbeitete ich
im Institute of Veterinary Science (Firma Syntex Research),
Mexico City, als wissenschaftlicher Mitarbeiter.

Meine Ausbildung erweiterte ich in der Zeit von Februar bis
Oktober 1971 durch den Kurs: "Ninth FAO/SIDA International
Course on Animal Reproduction" am Royal Veterinary College,
Stockholm/Schweden.

Seit November 1971 arbeite ich im Institut für Physiologie
der Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
der Technischen Universität München in Weihenstephan (von
November 1971 bis Juli 1973 als wissenschaftliche Hilfs-
kraft am Institut, ab August 1973 als wissenschaftlicher
Angestellter am Lehrstuhl für Physiologie der Fortpflanzung
und Laktation der Technischen Universität München).

